目次

1. まとめ 7
2. 分析法 9
2.1 非標識 DS-8201a、総抗体、抗 DS-8201a 抗体、抗 MAAL-9001 抗体、及び MAAA-1181a の分析法 9
2.1.1 DS-8201a の分析法 9
2.1.2 総抗体の分析法 9
2.1.3 MAAA-1181a の分析法 10
2.1.4 抗 DS-8201a 抗体の分析法 10
2.1.5 抗 MAAL-9001 抗体の分析法 10
2.2 放射性標識 DS-8201a 及び MAAA-1181a の分析法 10
3. 吸収 12
3.1 単回投与試験 12
3.1.1 カニクイザルに DS-8201a を単回静脈内投与後の薬物動態 12
3.2 反復投与試験 14
3.2.1 DS-8201a の静脈内反復投与後のトキシコキネティクス 14
3.2.1.1 ラット 14
3.2.1.2 カニクイザル 15
3.2.2 MAAA-1181a の静脈内反復投与後のトキシコキネティクス 17
3.2.2.1 ラット 17
3.2.2.2 カニクイザル 18
3.2.3 MAAL-9001 の静脈内反復投与後のトキシコキネティクス 19
3.2.3.1 ラット及びカニクイザル 19
4. 分布 20
4.1 定量全身オートラジオルミノグラフィー 20
4.1.1 カニクイザルに［^{3}H］標識 DS-8201a を単回静脈内投与後の定量全身オートラジオルミノグラフィー 20
4.1.2 カニクイザルに［^{14}C］標識 DS-8201a を単回静脈内投与後の定量全身オートラジオルミノグラフィー 21
4.2 In vitro 血漿タンパク結合 22
4.3 In vitro 血球移行性 23
5. 代謝（種間比較） 24
5.1 In vitro 代謝プロファイル 24
5.1.1 DS-8201a のマウス、ラット、サル、及びヒトの血漿中における in vitro 安定性 24
5.1.2 DS-8201a のラット、サル、及びヒト凍結肝細胞における in vitro 代謝 24
5.2 In vivo 代謝プロファイル 25

5.2.1 カニクイザルに［^{14}C］標識 DS-8201a を単回静脈内投与後の血漿中、尿中、及び糞中代謝プロファイル 25
5.2.2 ラットに［^{14}C］標識 MAAA-1181a を単回静脈内投与後の尿中、糞中、及び胆汁中代謝プロファイル 25
6. 排泄 27
6.1 DS-8201a の排泄 27
6.1.1 カニクイザルに ^{14}C-標識 DS-8201a を単回静脈内投与後の放射能の尿中及び糞中排泄 27
6.2 MAAA-1181a の排泄 28
6.2.1 ラットに［^{14}C］標識 MAAA-1181a を単回静脈内投与後の放射能の尿中、糞中、及び呼気中排泄 28
6.2.2 胆管カニューレ挿入ラットに［^{14}C］標識 MAAA-1181a を単回静脈内投与後の放射能の胆汁中、尿中、及び糞中排泄 29
7. 薬物動態学的薬物相互作用 30
8. その他の薬物動態試験 31
8.1 原薬間の薬物動態の比較 31
8.1.1 カニクイザルに DS-8201a（Process 1）又は DS-8201a（Process 2）を単回静脈内投与後の薬物動態 31
9. 考察及び結論 34
10. 参考文献 36

表一覧

表 2.6.4.2-1　分析法のバリデーション 9
表 2.6.4.3-1　雄性カニクイザルに DS-8201a を単回静脈内投与後の DS-8201a 及び総抗体の薬物動態パラメータ 14
表 2.6.4.3-2　DS-8201a のラット 6 週間間歇静脈内投与毒性試験におけるトキシコキネティクスパラメータ 15
表 2.6.4.3-3　DS-8201a のカニクイザル 6 週間間歇静脈内投与毒性試験におけるトキシコキネティクスパラメータ 16
表 2.6.4.3-4　DS-8201a のカニクイザル 3 ヵ月間歇静脈内投与毒性試験におけるトキシコキネティクスパラメータ 17
表 2.6.4.3-5　MAAA-1181a のラット 4 週間間歇静脈内投与毒性試験におけるトキシコキネティクスパラメータ 18
表 2.6.4.3-6　MAAA-1181a のカニクイザル 4 週間間歇静脈内投与毒性試験におけるトキシコキネティクスパラメータ 19
表 2.6.4.3-7　MAAL-9001 のラット及びカニクイザル 6 週間間歇静脈内投与毒性試験におけるトキシコキネティクスパラメータ 19
表 2.6.4.4-1　非絶食下の雄性カニクイザルに［^{3}H］標識 DS-8201a を単回静脈内投与後の組織中放射能濃度 21
表 2.6.4.4-2　非絶食下の雄性カニクイザルに［^{14}C］標識 DS-8201a を単回静脈内投与後の組織中放射能濃度 22
表 2.6.4.5-1　DS-8201a を血漿及び緩衝液と 21 日間インキュベーション後の MAAA-1181a の生成率 24
表 2.6.4.5-2　ラットの尿中、糞中、及び胆汁中の代謝物 26
表 2.6.4.8-1　雄性カニクイザルに DS-8201a（Process1）又は DS-8201a（Process 2）を単回静脈内投与後の DS-8201a、総抗体、及び MAAA-1181a の薬物動態パラメータ 33

図一覧

図 2.6.4.2-1　［^{14}C］標識 DS-8201a の構造 11
図 2.6.4.2-2　［^{14}C］標識 MAAA-1181a の構造 11
図 2.6.4.3-1　雄性カニクイザルに DS-8201a を単回静脈内投与後の DS-8201a、総抗体、及び MAAA-1181a の血漿中濃度時間推移 13
図 2.6.4.5-1　凍結肝細胞における推定 in vitro 代謝経路 25
図 2.6.4.5-2　推定 in vivo 代謝／異化経路 26
図 2.6.4.6-1　カニクイザルに［^{14}C］標識 DS-8201a を単回静脈内投与後の尿中及び糞中累積放射能排泄率 27
図 2.6.4.6-2　ラットに［^{14}C］標識 MAAA-1181a を単回静脈内投与後の尿中、糞中、及び呼気中累積放射能排泄率 28
図 2.6.4.6-3　ラットに［^{14}C］標識 MAAA-1181a を単回静脈内投与後の胆汁中、尿中、及び糞中累積放射能排泄率 29
図 2.6.4.8-1　雄性カニクイザルに DS-8201a（Process1）又は DS-8201a（Process 2）を単回静脈内投与後の DS-8201a、総抗体、及び MAAA-1181a の血漿中濃度時間推移 31

略語一覧

略語	略していない表現（英）	略していない表現（日）
ADC	antibody-drug conjugate	抗体薬物複合体
AUC	area under the plasma concentration-time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
AUCt	area under the plasma concentration-time curve up to time t	投与後 t までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUCinf	area under the plasma concentration-time curve up to infinity	無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUClast	area under the plasma concentration-time curve up to the last quantifiable time	定量可能な最終時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積
BLQ	below the lower limit of quantification	定量下限以下
C0	initial plasma concentration	投与直後の推定血漿中濃度
C21d	plasma concentration at 21 days after the end of dosing	投与後 21 日目の血漿中濃度
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
CI	confidence interval	信頼区間
CL	total body clearance	全身クリアランス
Cmax	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
d	day	－
DAR	drug-to-antibody ratio	1 抗体あたりの薬物抗体比
ECLA	electro-chemiluminescence assay	電気化学発光測定法
eq	equivalent	－
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HER2	human epidermal growth factor receptor 2	ヒト上皮細胞増殖因子受容体 2
HPLC	high performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
IgG1	immunoglobulin G1	免疫グロブリン G1
Kel	elimination rate constant associated with the terminal phase	終末相消失速度定数
LC-MS	liquid chromatography-mass spectrometry	液体クロマトグラフィー質量分析法
LC-MS/MS	liquid chromatography-tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィータンデム質量分析法
LSC	liquid scintillation counting	液体シンチレーションカウンター
MRTinf	mean residence time up to infinity	無限大時間までの平均滞留時間
NC	not calculated	計算せず
ND	not detected	検出せず
NS	not specified	特定せず
PSL	photo-stimulated luminescence	－
t1/2	terminal elimination half-life	終末相の消失半減期
TK	toxicokinetic/s	トキシコキネティクス
Vss	volume of distribution at steady state	定常状態下の分布容積

－：該当する表記なし

用語定義

用語	定義
DS-8201a	HER2 を標的とした抗体薬物複合体（DAR: 約 8）、トラスツズマブ　デルクステカン（遺伝子組換え）
^{14}C-DS-8201a	［^{14}C］標識 DS-8201a
^{3}H-DS-8201a	［^{3}H］標識 DS-8201a
DS-8201a（Process 1）	MAAL-9001（Process 1）で製造した原薬
DS-8201a（Process 2）	MAAL-9001（Process 2）で製造した原薬
MAAA-1181a	DS-8201a から遊離した薬物: トポイソメラーゼ I 阻害剤であるエキサテカンの誘導体
^{14}C-MAAA-1181a	［^{14}C］標識 MAAA-1181a
MAAL-9001	DS-8201a の中間体: トラスツズマブとアミノ酸配列が同一のヒト化抗 HER2 IgG1κ モノクローナル抗体
MAAL-9001（Process 1）	MAb Process-1 で生産した MAAL-9001
MAAL-9001（Process 2）	MAb Process-2 で生産した MAAL-9001
MAb Process-1	MAAL-9001 産生 CHO[redacted] 細胞株を用いた MAAL-9001 の生産工程 1
MAb Process-2	MAAL-9001 産生 CHO[redacted] 細胞株を用いた MAAL-9001 の生産工程 2
総抗体 [a]	薬物結合型及び非結合型抗体をあわせた抗体

[a] 臨床の項では、総抗 HER2 抗体と記載

1. まとめ

DS-8201a（トラスツズマブ　デルクステカン［遺伝子組換え］）は、ヒト上皮細胞増殖因子受容体 2（human epidermal growth factor receptor 2: HER2）を標的とした抗体薬物複合体（antibody-drug conjugate: ADC）であり、抗 HER2 抗体 MAAL-9001 にトポイソメラーゼ I 阻害剤 MAAA-1181a を切断可能なペプチド含有リンカーを介して結合させ、1 抗体あたりの薬物抗体比は約 8 である。MAAL-9001 は、トラスツズマブとアミノ酸配列が同一のヒト化抗 HER2 免疫グロブリン G1κ モノクローナル抗体である。

MAAL-9001 は、MAAL-9001 の DNA 配列を導入したチャイニーズハムスター卵巣（Chinese hamster ovary: CHO）細胞で生産される。DS-8201a の開発では 2 種類の MAAL-9001 産生 CHO 細胞株を樹立した。DS-8201a の非臨床試験及び開発初期段階では、MAAL-9001 産生[redacted] CHO[redacted] 細胞株を用いた。開発の初期段階、後期段階、及び最終的な実生産では第 2 の MAAL-9001 産生[redacted] CHO[redacted]細胞株を使用している。それぞれの MAAL-9001 産生細胞株について MAAL-9001 の製造工程（MAb Process-1 及び MAb Process-2）を開発した（2.3.S.2.6.1［抗体］参照）。

非臨床試験に用いた MAAL-9001 及び DS-8201a について、MAb Process-1 で生産した MAAL-9001 を MAAL-9001（Process 1）、MAb Process-2 で生産した MAAL-9001 を MAAL-9001（Process 2）、MAAL-9001（Process 1）を用いて製造した DS-8201a を DS-8201a（Process 1）、MAAL-9001（Process 2）を用いて製造した DS-8201a を DS-8201a（Process 2）とする。

非臨床の項では、非臨床試験に用いた DS-8201a は特に記載のない限り DS-8201a（Process 1 [redacted]）を指し、MAAL-9001 は MAAL-9001（Process 1 [redacted]）を指す。

マウス、ラット、及びサルの血漿中の DS-8201a 及び総抗体（薬物結合型及び非結合型を合わせた抗体）濃度の測定のために、リガンド結合法を開発しバリデートした。ラット及びサル血漿中の抗 DS-8201a 抗体及び抗 MAAL-9001 抗体濃度の測定のために、電気化学発光測定法（electro-chemiluminesence assay: ECLA）を開発しバリデートした。検体中の MAAA-1181a 濃度を測定するために、液体クロマトグラフィータンデム質量分析法（liquid chromatography-tandem mass spectrometry: LC-MS/MS）を開発しバリデートした。

カニクイザルに、DS-8201a（0.1～3.0 mg/kg）を単回静脈内投与後、DS-8201a の CL（14.0～55.7 mL/d/kg）は、肝血流量に比べ極めて低かった。また、用量の増加とともに低下したことから、非線形性な消失プロセスが示唆された。Vss（30.6～55.4 mL/kg）は血漿容積とほぼ同程度であった。DS-8201a と総抗体は、同様の薬物動態プロファイルを示し、DS-8201a は投与後、大部分が ADC として安定に血漿中に存在すると考えられた。DS-8201a から遊離した薬物 MAAA-1181a の血漿中濃度は、DS-8201a 及び総抗体に比べ極めて低かった（モル比: 約 1/400）。抗 DS-8201a 抗体はいずれの動物でも検出されなかった。

カニクイザルに［^{3}H］標識 DS-8201a（^{3}H-DS-8201a、抗体部分の ^{3}H 標識体）又は［^{14}C］標識 DS-8201a（^{14}C-DS-8201a、薬物部分の ^{14}C 標識体）を 6.4 mg/kg で単回静脈内投与後、全試験期間を通して放射能濃度が最も高かった組織は血液であった。放射能は、血液に次いで、腎臓、肺、肝臓のような血流量の多い組織に比較的高く分布したが、これらの臓器における

放射能の組織／血液比はいずれも 1 未満であった（ただし、^{14}C-DS-8201a 投与時における大腸内容物［排泄部位］を除く）。いずれの組織中の放射能も、血中放射能の低下に伴い低下し、特定の組織への残留性は認められなかった。

MAAA-1181a（10～100 ng/mL）の in vitro 血漿タンパク結合率は、マウスで 90.3%～92.5%、ラットで 94.2%～96.7%、サルで 86.5%～89.1%、ヒトで 96.8%～98.0%であった。［^{14}C］標識 MAAA-1181a（^{14}C-MAAA-1181a、10～100 ng/mL）の放射能の in vitro 血球移行率は、マウスで 31.6%～33.8%、ラットで 27.8%～32.7%、サルで 36.4%～39.7%、ヒトで 13.0%～17.7%であった。

DS-8201a を用いたマウス、ラット、サル、及びヒトの in vitro 血漿中安定性試験では、血漿に DS-8201a を添加後 3 週間の時点で遊離した MAAA-1181a の割合は 3.9%以下であった。ラット、サル、及びヒトの凍結肝細胞を用いた in vitro 代謝系で、ヒト特異的な DS-8201a の代謝物は検出されず、DS-8201a は代謝的に安定だと考えられた。

ラットにおいて、^{14}C-MAAA-1181a を 1 mg/kg で単回静脈内投与後の放射能の主排泄経路は胆汁を介した糞中排泄であり、ラットの尿中、糞中、及び胆汁中の主な放射性成分は MAAA-1181a であった。サルにおいて、^{14}C-DS-8201a を 6.4 mg/kg で単回静脈内投与後の放射能の主排泄経路は糞中排泄であり、サルの尿中及び糞中の主な異化生成物は MAAA-1181a であった。

サルに DS-8201a（Process 1）又は DS-8201a（Process 2）を 8.0 mg/kg で単回静脈内投与後の薬物動態を比較した。DS-8201a（Process 2）の Cmax は生物学的同等性のクライテリアを満たしたが、DS-8201a（Process 2）の AUC21d は、DS-8201a（Process1）投与時の約 22%低かった。両原薬に対する抗 DS-8201a 抗体の産生はいずれの動物でも認められなかった。

2.　分析法

2.1　非標識 DS-8201a、総抗体、抗 DS-8201a 抗体、抗 MAAL-9001 抗体、及び MAAA-1181a の分析法

マウス、ラット、及びサル血漿中の DS-8201a 及び総抗体濃度は、バリデートされたリガンド結合法により測定した。ラット及びサル血漿中の抗 DS-8201a 抗体及び抗 MAAL-9001 抗体濃度は ECLA により測定した。検体中の MAAA-1181a 濃度はバリデートされた LC-MS/MS によって測定した。表 2.6.4.2-1 にバリデートされた分析法の概要を示す。

表 2.6.4.2-1　分析法のバリデーション

測定対象	測定方法	動物試料	検量線範囲 (ng/mL)	定量下限 (ng/mL)	添付資料番号
DS-8201a 及び総抗体	リガンド結合法	マウス血漿	75.0 to 80,000	100	4.2.2.1-1
	リガンド結合法	ラット血漿	100 to 60,000	100	4.2.2.1-2
	リガンド結合法	サル血漿	100 to 60,000	100	4.2.2.1-3
抗 DS-8201a 抗体	ECLA	ラット血漿	39.1 to 10,000	39.1	4.2.2.1-4
	ECLA	サル血漿	39.1 to 10,000	39.1	4.2.2.1-5
抗 MAAL-9001 抗体	ECLA	ラット血漿	39.1 to 40,000	39.1	4.2.2.1-4
	ECLA	サル血漿	39.1 to 40,000	39.1	4.2.2.1-5
MAAA-1181a	LC-MS/MS	ヒト及びマウス血漿、緩衝液	0.100 to 20.0	0.100	4.2.2.1-6
	LC-MS/MS	血漿上清（マウス、ラット、サル、ヒト）	0.100 to 20.0	0.100	4.2.2.1-7
	LC-MS/MS	ラット血漿	0.100 to 20.0	0.100	4.2.2.1-8
	LC-MS/MS	サル血漿	0.100 to 20.0	0.100	4.2.2.1-9
	LC-MS/MS	ラット及びサル血漿	0.100 to 20.0	0.100	4.2.2.1-10

ECLA, electro-chemiluminescence assay; LC-MS/MS, liquid chromatography-tandem mass spectrometry.

2.1.1　DS-8201a の分析法

添付資料番号: 4.2.2.1-1、4.2.2.1-2、4.2.2.1-3

マウス、ラット、及びサル血漿中の DS-8201a 濃度は、バリデートされたリガンド結合法を用いて測定した。[redacted]化[redacted] を捕捉抗原、[redacted] 標識[redacted] 標識[redacted]）を検出抗体として用いた。検出抗体は MAAA-1181a を特異的に認識する。定量下限は 100 ng/mL であった。

2.1.2　総抗体の分析法

添付資料番号: 4.2.2.1-1、4.2.2.1-2、4.2.2.1-3

マウス、ラット、及びサル血漿中の総抗体濃度は、バリデートされたリガンド結合法を用いて測定した。[redacted]化[redacted] を捕捉抗原、[redacted] 標識[redacted] を検出抗体として用いた。本分析法では、MAAA-1181a 結合及び非結合 MAAL-9001 を検出で

きる。定量下限は 100 ng/mL であった。

2.1.3　MAAA-1181a の分析法

添付資料番号: 4.2.2.1-8、4.2.2.1-9、4.2.2.1-10、4.2.2.1-6、4.2.2.1-7

ラット及びサル血漿中の MAAA-1181a 濃度は、バリデートされた LC-MS/MS を用いて測定した。タンパク結合試験及び in vitro 安定性試験において、ヒト及びマウス血漿、並びに全ての種の超遠心分離後の血漿上清及び緩衝液中の MAAA-1181a 濃度は、簡易バリデートされた LC-MS/MS を用いて測定した。本分析法では、遊離した MAAA-1181a のみが検出できる。検体はエタノールを用いて除タンパク処理し LC-MS/MS で分析した。定量下限は 0.100 ng/mL であった。

2.1.4　抗 DS-8201a 抗体の分析法

添付資料番号: 4.2.2.1-4、4.2.2.1-5

ラット及びサル血漿中の抗 DS-8201a 抗体濃度は、バリデートされたブリッジング ECLA を用いて測定した。[redacted]化[redacted] 及び[redacted]標識[redacted] を血漿とインキュベートした。定量下限は 39.1 ng/mL であった。

2.1.5　抗 MAAL-9001 抗体の分析法

添付資料番号: 4.2.2.1-4、4.2.2.1-5

ラット及びカニクイザルの血漿中抗 MAAL-9001 抗体の濃度は、バリデートされたブリッジング ECLA を用いて測定した [redacted]化[redacted] 及び[redacted]標識[redacted] を血漿とインキュベートした。定量下限は 39.1 ng/mL であった。

2.2　放射性標識 DS-8201a 及び MAAA-1181a の分析法

DS-8201a 及び MAAA-1181a の分布、代謝、及び排泄試験には、放射性標識体 ^{3}H-DS-8201a、^{14}C-DS-8201a、及び ^{14}C-MAAA-1181a を用いた。^{3}H-DS-8201a は抗体部分を［^{3}H］*N*-propionylsuccinimide を用いて標識した。^{14}C-DS-8201a は薬物部分（MAAA-1181a のラクトンカルボニル基の炭素原子）を[^{14}C]で標識した。^{14}C-DS-8201a 及び ^{14}C-MAAA-1181a の構造を図 2.6.4.2-1 及び図 2.6.4.2-2 に示す。調製した投与液の安定性は各試験で動物への投与後にラジオ高速液体クロマトグラフィー（high performance liquid chromatography: HPLC）を用いて放射化学的純度を測定することにより担保した。

検体中の放射能は液体シンチレーションカウンター（liquid scintillation counting: LSC）で測定した。一部の分布試験では、オートラジオルミノグラフィーにて、組織中の放射能を検出・定量した。検体中の ^{14}C-DS-8201a、^{14}C-MAAA-1181a、及びその代謝物はラジオ HPLC 及び液体クロマトグラフィー質量分析法（liquid chromatography-mass spectrometry: LC-MS）を用いて分析した。

図 2.6.4.2-1　［^{14}C］標識 DS-8201a の構造

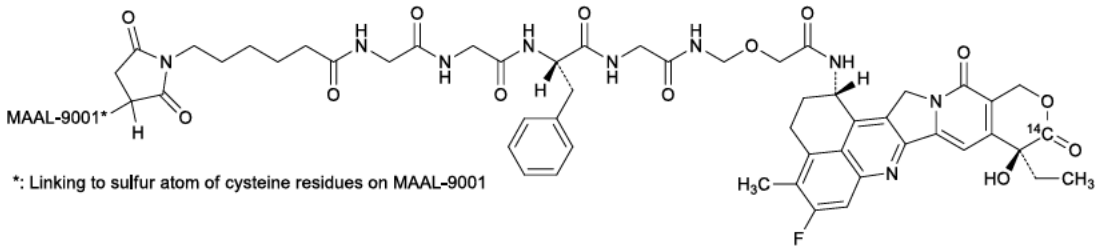
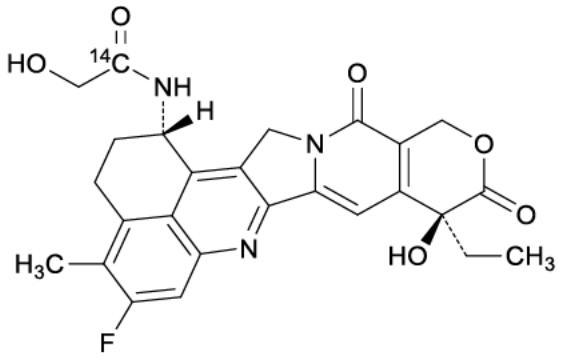


図 2.6.4.2-2　［^{14}C］標識 MAAA-1181a の構造



3.　吸収

3.1　単回投与試験

3.1.1　カニクイザルに DS-8201a を単回静脈内投与後の薬物動態

添付資料番号: 4.2.2.2-1

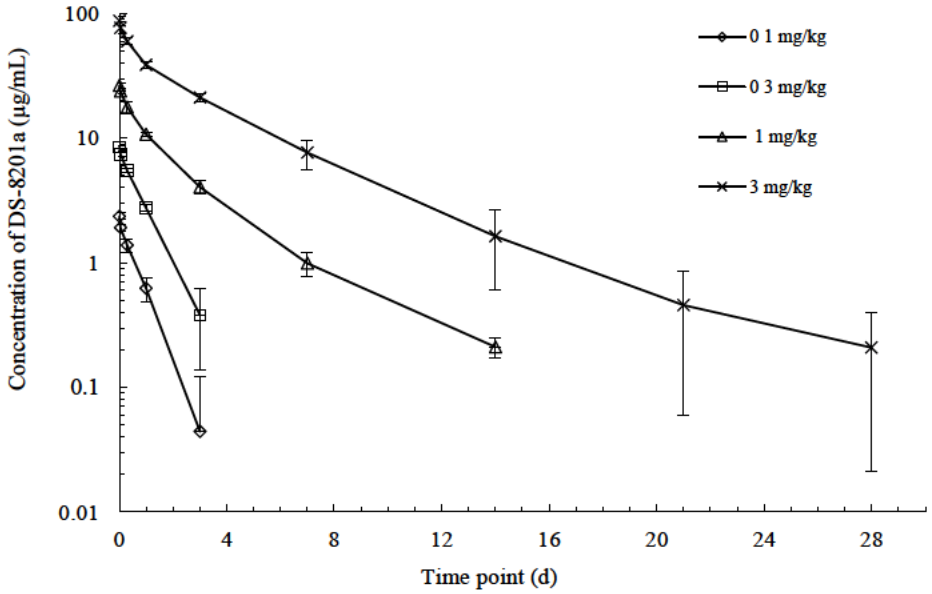
雄性絶食カニクイザル（各群 3 例）に DS-8201a を 0.1、0.3、1、及び 3 mg/kg の投与量で単回静脈内投与後の DS-8201a の薬物動態を検討した。DS-8201a、総抗体、抗 DS-8201a 抗体、及び MAAA-1181a の血漿中濃度を、投与前、投与 0.083、1、7 時間後、1、3、7、14、21、28 日後に測定した。

結果を図 2.6.4.3-1 及び表 2.6.4.3-1 に示す。血漿中 DS-8201a 濃度は単回静脈投与後、指数関数的に減少する推移を示した。DS-8201a の AUC は用量比以上に増加した。DS-8201a の CL（14.0～55.7 mL/d/kg）は 0.1 mg/kg から 3 mg/kg にかけて低下した。DS-8201a の t1/2 及び無限大時間までの平均滞留時間（mean residence time up to infinity: MRTinf）は、0.1 mg/kg で 0.641 日及び 0.834 日、0.3 mg/kg で 0.686 日及び 0.867 日、1 mg/kg で 2.90 日及び 2.55 日、3 mg/kg で 3.92 日及び 3.84 日であった。DS-8201a の t1/2 及び MRTinf は 0.1 及び 0.3 mg/kg に比べ 1 及び 3 mg/kg で長くなった。DS-8201a の Vss は血漿容積とほぼ同程度であり、DS-8201a の投与量間で差は認められなかった（30.6～55.4 mL/kg）。

DS-8201a 及び総抗体の薬物動態パラメータに大きな差は認められなかった。抗 DS-8201a 抗体の産生は認められなかった。血漿中 MAAA-1181a 濃度は 0.1 及び 0.3 mg/kg で定量限界（0.100 ng/mL）未満であり、1 及び 3 mg/kg では数時点で検出されたが低濃度であった（最大値はそれぞれ 0.195 及び 0.709 ng/mL）。

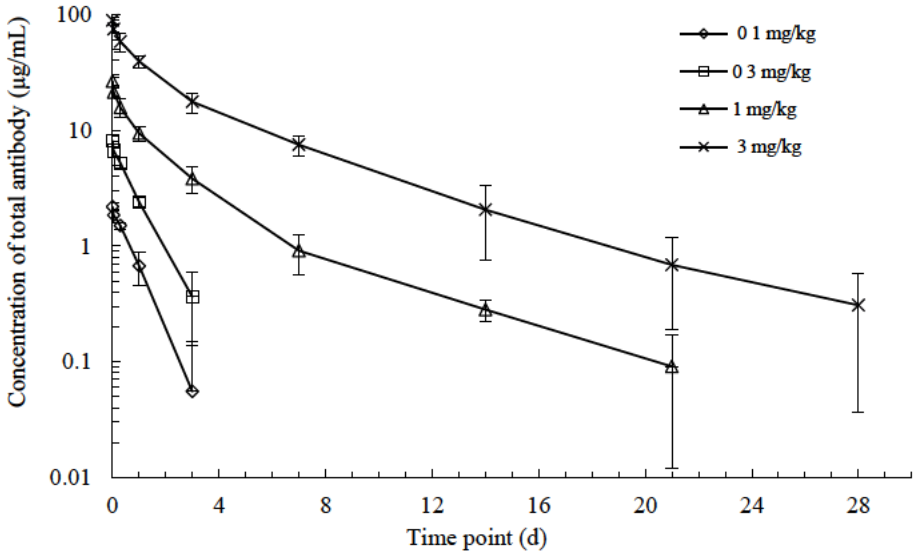
図 2.6.4.3-1　雄性カニクイザルに DS-8201a を単回静脈内投与後の DS-8201a、総抗体、及び MAAA-1181a の血漿中濃度時間推移（1/2）

DS-8201a



The data are expressed as the mean ± standard deviation (n = 3).
d, day.

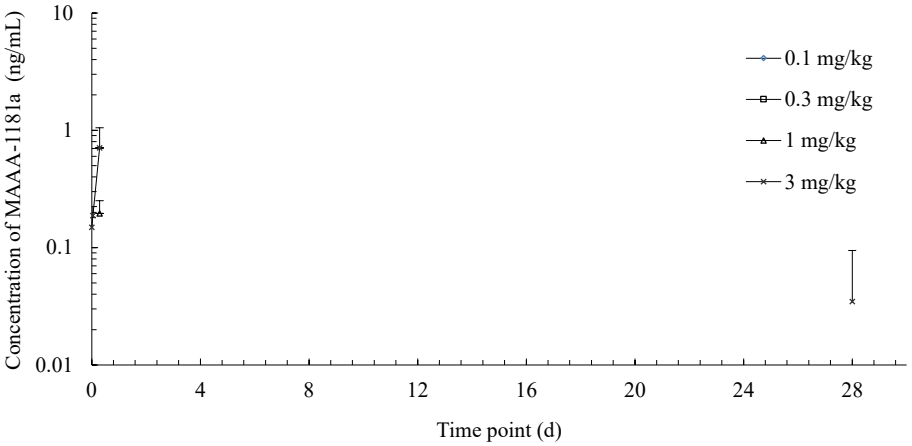
総抗体



The data are expressed as the mean ± standard deviation (n = 3).
d, day.

図 2.6.4.3-1　雄性カニクイザルに DS-8201a を単回静脈内投与後の DS-8201a、総抗体、及び MAAA-1181a の血漿中濃度時間推移 (2/2)

MAAA-1181a



The data are expressed as the mean + standard deviation (n = 3).
d, day.

表 2.6.4.3-1　雄性カニクイザルに DS-8201a を単回静脈内投与後の DS-8201a 及び総抗体の薬物動態パラメータ

投与量 (mg/kg)	0.1	0.3	1	3
DS-8201a				
AUClast (μg·d/mL)	1.51 ± 0.66	8.01 ± 0.55	45.2 ± 4.4	214 ± 20
AUCinf (μg·d/mL)	1.87 ± 0.49	8.43 ± 0.86	46.1 ± 4.5	216 ± 21
t1/2 (d)	0.641 ± 0.137	0.686 ± 0.191	2.90 ± 0.08	3.92 ± 1.71
CL (mL/d/kg)	55.7 ± 13.4	35.9 ± 3.8	21.8 ± 2.3	14.0 ± 1.3
Vss (mL/kg)	45.3 ± 6.7	30.6 ± 3.9	55.4 ± 2.6	52.7 ± 11.3
MRTinf (d)	0.834 ± 0.152	0.867 ± 0.191	2.55 ± 0.15	3.84 ± 1.10
総抗体				
AUClast (μg·d/mL)	1.63 ± 0.77	7.25 ± 0.11	42.4 ± 9.2	208 ± 26
AUCinf (μg·d/mL)	2.00 ± 0.63	7.67 ± 0.38	43.4 ± 9.1	211 ± 27
t1/2 (d)	0.648 ± 0.159	0.706 ± 0.217	4.54 ± 0.93	4.60 ± 1.54
MRTinf (d)	0.843 ± 0.190	0.886 ± 0.230	3.19 ± 0.43	4.34 ± 1.42

Values are expressed as the mean ± standard deviation (n =3).
d, day.

3.2　反復投与試験

3.2.1　DS-8201a の静脈内反復投与後のトキシコキネティクス

3.2.1.1　ラット

3.2.1.1.1　6 週間間歇投与毒性試験

添付資料番号: 4.2.3.2-1

DS-8201a の 6 週間間歇投与（3 週間に 1 回）毒性試験（GLP 適用）で、静脈内急速投与後の DS-8201a、総抗体、及び MAAA-1181a のトキシコキネティクス（toxicokinetics: TK）を評

価した（2.6.6.3.1 参照）。

DS-8201a、総抗体、及び MAAA-1181a の TK パラメータを表 2.6.4.3-2 に示す。DS-8201a 及び総抗体の C0 及び AUC21d は、20 mg/kg から 197 mg/kg までほぼ投与量に伴って増加した。また、MAAA-1181a の Cmax 及び AUC21d も 20 mg/kg から 197 mg/kg までほぼ投与量に伴って増加した。TK パラメータに反復投与後の明らかな変化や性差は認められなかった。なお、投与期間及び休薬期間に、血漿中の抗 DS-8201a 抗体はいずれの動物でも検出されなかった。

表 2.6.4.3-2　DS-8201a のラット 6 週間間歇静脈内投与毒性試験におけるトキシコキネティクスパラメータ

投与量 (mg/kg)	20		60		197	
動物数	雄: 4	雌: 4	雄: 4	雌: 4	雄:4	雌: 4
DS-8201a						
C0 (µg/mL)						
Day 1	439 ± 41.6	497 ± 37.7	1400 ± 47.7	1510 ± 174	4300 ± 348	5070 ± 444
Day 22	613 ± 28.3	615 ± 31.7	1740 ± 75.5	1890 ± 130	6410 ± 121	5730 ± 558
AUC21d (µg·d/mL)						
Day 1	1776 ± 64	1869 ± 188	4903 ± 493	4871 ± 542	13,824 ± 1420	15,096 ± 2432
Day 22	2676 ± 226	2339 ± 265	6756 ± 415	7391 ± 536	14,264 ± 4063	19,818 ± 2159
t1/2 (d)						
Day 1	8.07 ± 0.0631	7.61 ± 0.270	8.52 ± 0.827	8.67 ± 1.17	5.78 ± 2.66	6.88 ± 2.54
Day 22	8.47 ± 0.481	7.63 ± 0.660	8.98 ± 1.61	9.56 ± 0.731	5.20 ± 2.44	8.43 ± 1.14
総抗体						
C0 (µg/mL)						
Day 1	459 ± 48.5	514 ± 22.9	1530 ± 77.6	1470 ± 65.1	4980 ± 262	4700 ± 533
Day 22	611 ± 41.1	632 ± 12.7	2030 ± 191	1780 ± 86.5	6560 ± 475	5970 ± 736
AUC21d (µg·d/mL)						
Day 1	2095 ± 106	2182 ± 156	6017 ± 579	6067 ± 231	17,481 ± 2054	17,036 ± 2396
Day 22	3035 ± 200	2736 ± 358	8069 ± 545	8448 ± 461	17,895 ± 5189	22,533 ± 2460
t1/2 (d)						
Day 1	9.79 ± 0.390	9.76 ± 0.735	10.4 ± 0.337	10.4 ± 1.16	6.12 ± 2.85	7.86 ± 3.12
Day 22	11.0 ± 0.376	9.04 ± 1.01	9.64 ± 1.72	11.7 ± 1.29	5.13 ± 2.41	10.3 ± 2.04
MAAA-1181a						
Cmax (ng/mL)						
Day 1	0.819 ± 0.108	1.21 ± 0.370	2.49 ± 0.351	3.54 ± 1.21	9.89 ± 1.34	15.0 ± 3.57
Day 22	1.41 ± 0.284	1.19 ± 0.362	4.20 ± 0.287	4.36 ± 0.397	13.4 ± 1.06	14.0 ± 4.25
AUC21d (ng·d/mL)						
Day 1	2.88 ± 0.287	2.45 ± 0.657	8.57 ± 0.456	6.86 ± 0.690	31.9 ± 3.42	28.1 ± 3.17
Day 22	4.68 ± 0.733	3.02 ± 0.515	14.4 ± 0.606	10.0 ± 1.24	40.3 ± 9.87	32.4 ± 3.09
t1/2 (d)						
Day 1	4.24 ± 0.506	3.16 ± 0.641	3.90 ± 1.30	3.46 ± 0.703	3.57 ± 1.24	5.34 ± 0.430
Day 22	6.64 ± 0.524	5.73 ± 1.95	6.14 ± 0.373	6.90 ± 1.12	3.23 ± 1.56	6.37 ± 1.30

Values are expressed as the mean ± standard deviation.
d, day.

3.2.1.2　カニクイザル

3.2.1.2.1　6 週間間歇投与毒性試験

添付資料番号: 4.2.3.2-2

DS-8201a の 6 週間間歇投与（3 週間に 1 回）毒性試験（GLP 適用）で、静脈内急速投与後の DS-8201a、総抗体、及び MAAA-1181a の TK を評価した（2.6.6.3.2 参照）。

DS-8201a、総抗体、及び MAAA-1181a の TK パラメータを表 2.6.4.3-3 に示す。DS-8201a 及び総抗体の C0 及び AUC21d は、10 mg/kg から 78.8 mg/kg までほぼ投与量に伴って増加した。また、MAAA-1181a の Cmax 及び AUC21d も 10 mg/kg から 78.8 mg/kg までほぼ投与量に伴って増加した。TK パラメータに反復投与後の明らかな変化や性差は認められなかった。なお、投与期間及び休薬期間に、血漿中の抗 DS-8201a 抗体はいずれの動物でも検出されなかった。

表 2.6.4.3-3　DS-8201a のカニクイザル 6 週間間歇静脈内投与毒性試験におけるトキシコキネティクスパラメータ

投与量(mg/kg)	10		30		78.8	
動物数	雄: 3	雌: 3	雄: 5	雌: 5	雄: 5	雌: 5
DS-8201a						
C0 (µg/mL)						
Day 1	271 ± 38.8	291 ± 9.23	907 ± 128	891 ± 81.2	2600 ± 573	2080 ± 120
Day 22	338 ± 40.1	363 ± 46.4	859 ± 150	699 ± 69.3	2520 ± 156	2190 ± 275
AUC21d (µg·d/mL)						
Day 1	1050 ± 123	1057 ± 216	3611 ± 594	3442 ± 198	9338 ± 1243	7778 ± 1435
Day 22	1096 ± 264	1067 ± 157	4802 ± 1002	3861 ± 534	10,563 ± 774	9471 ± 638[a]
t1/2 (d)						
Day 1	4.96 ± 0.833	5.07 ± 0.904	7.47 ± 0.624	6.59 ± 1.36	7.42 ± 0.814	5.99 ± 0.780
Day 22	5.03 ± 1.63	5.26 ± 1.12	7.01 ± 0.505	6.30 ± 0.474	8.52 ± 1.14	6.32 ± 2.33
総抗体						
C0 (µg/mL)						
Day 1	268 ± 33.3	267 ± 8.44	1010 ± 73.4	885 ± 86.9	2580 ± 521	2200 ± 127
Day 22	290 ± 35.9	294 ± 28.6	972 ± 176	698 ± 87.7	2120 ± 109	2050 ± 101
AUC21d (µg·d/mL)						
Day 1	1065 ± 90	1087 ± 230	4318 ± 654	3936 ± 198	10,026 ± 1199	8962 ± 1451
Day 22	1152 ± 342	1247 ± 338	5884 ± 1167	3939 ± 481	12,135 ± 794	10,535 ± 901[a]
t1/2 (d)						
Day 1	5.63 ± 1.14	5.67 ± 1.01	8.69 ± 0.910	6.81 ± 3.07	8.48 ± 0.777	6.80 ± 0.841
Day 22	5.53 ± 1.83	5.90 ± 1.45	10.1 ± 1.58	8.50 ± 0.847	9.15 ± 1.13	7.18 ± 2.35
MAAA-1181a						
Cmax (ng/mL)						
Day 1	0.896 ± 0.270	1.25 ± 0.305	3.55 ± 1.36	3.01 ± 0.723	11.0 ± 1.10	16.4 ± 11.6
Day 22	1.14 ± 0.399	0.834 ± 0.0630	3.76 ± 0.633	2.85 ± 0.567	12.8 ± 1.30	13.5 ± 5.95
AUC21d (ng·d/mL)						
Day 1	2.79 ± 0.784	1.93 ± 0.131	9.06 ± 2.13	9.60 ± 2.83	44.9 ± 15.1	73.9 ± 48.2
Day 22	3.22 ± 1.18	1.47 ± 0.258	11.0 ± 2.47	8.39 ± 2.42	39.3 ± 9.34	24.7 ± 3.72
t1/2 (d)						
Day 1	4.38 ± 0.539	3.07 ± 1.85	3.97 ± 1.12	4.58 ± 3.19	4.32 ± 0.638[a]	5.59 ± NC[b]
Day 22	3.13 ± 0.668	1.68 ± 0.403	5.79 ± 2.18	4.77 ± 2.59	5.16 ± 0.941	4.78 ± 1.73

Values are expressed as the mean ± standard deviation.
d, day; NC, not calculated.
[a] Calculated from 4 animals.
[b] Calculated from 2 animals.

3.2.1.2.2　3 ヵ月間間歇投与毒性試験

添付資料番号: 4.2.3.2-4

DS-8201a（Process 2）の 3 ヵ月間間歇投与（3 週間に 1 回）毒性試験（GLP 適用）で、静脈内急速投与後の DS-8201a、総抗体、及び MAAA-1181a の TK を評価した（2.6.6.3.4 参照）。

DS-8201a、総抗体、及び MAAA-1181a の TK パラメータを表 2.6.4.3-4 に示す。DS-8201a

及び総抗体の C0 及び AUC21d は、3 mg/kg から 30 mg/kg までほぼ投与量に伴って増加した。また、MAAA-1181a の Cmax 及び AUC21d も 3 mg/kg から 30 mg/kg までほぼ投与量に伴って増加した。TK パラメータに反復投与後の明らかな変化や性差は認められなかった。なお、投与期間及び休薬期間に、血漿中の抗 DS-8201a 抗体はいずれの動物でも検出されなかった。

表 2.6.4.3-4　DS-8201a のカニクイザル 3 ヵ月間歇静脈内投与毒性試験におけるトキシコキネティクスパラメータ

投与量 (mg/kg)	3		10		30	
動物数	雄: 4	雌: 4	雄: 4	雌: 4	雄: 6	雌: 6
DS-8201a						
C0 (µg/mL)						
Day 1	101 ± 9.08	95.3 ± 8.18	295 ± 33.9	339 ± 31.8	877 ± 88.5	899 ± 58.9
Day 64	78.2 ± 15.0	98.4 ± 7.97	320 ± 79.0	352 ± 67.8	898 ± 130	1090 ± 202
AUC21d (µg·d/mL)						
Day 1	317 ± 26.9	268 ± 31.3	1220 ± 113	1080 ± 125	4090 ± 685	3770 ± 462
Day 64	286 ± 45.3	285 ± 29.1	1390 ± 170	1110 ± 226	5030 ± 771	4910 ± 802
t1/2 (d)						
Day 1	3.95 ± 0.227	3.85 ± 0.183	5.56 ± 0.457	5.13 ± 0.385	7.71 ± 0.666	6.53 ± 0.524
Day 64	4.32 ± 0.579	3.84 ± 0.383	6.08 ± 0.521	5.05 ± 1.07	9.02 ± 1.42	7.40 ± 0.878
総抗体						
C0 (µg/mL)						
Day 1	113 ± 12.0	96.9 ± 4.83	280 ± 41.3	312 ± 58.2	845 ± 112	886 ± 92.1
Day 64	78.4 ± 12.1	106 ± 11.3	295 ± 59.3	320 ± 60.8	949 ± 122	1090 ± 190
AUC21d (µg·d/mL)						
Day 1	357 ± 31.8	287 ± 36.8	1280 ± 118	1130 ± 141	4300 ± 731	3790 ± 445
Day 64	297 ± 54.8	319 ± 41.0	1450 ± 208	1150 ± 260	5960 ± 1100	5500 ± 1040
t1/2 (d)						
Day 1	4.33 ± 0.340	4.09 ± 0.304	6.25 ± 0.473	5.89 ± 0.587	9.25 ± 1.23	7.95 ± 1.18
Day 64	4.73 ± 0.569	4.18 ± 0.491	7.04 ± 0.649	5.80 ± 1.22	9.56 ± 1.28	8.31 ± 1.25
MAAA-1181a						
Cmax (ng/mL)						
Day 1	0.242 ± 0.0236	0.248 ± 0.106	0.656 ± 0.0912	1.02 ± 0.451	2.71 ± 0.546	3.90 ± 1.11
Day 64	0.223 ± 0.0708	0.186 ± 0.0277	0.842 ± 0.207	1.28 ± 0.659	2.33 ± 0.450	4.86 ± 1.88
AUC21d (ng·d/mL)						
Day 1	0.779 ± 0.122	0.874 ± 0.507	2.52 ± 0.876	2.75 ± 1.40	9.91 ± 2.68	12.0 ± 3.52
Day 64	0.634 ± 0.215	0.294 ± 0.0532	3.06 ± 0.289	2.39 ± 1.05	11.0 ± 2.42	13.5 ± 4.43
t1/2 (d)						
Day 1	NC	NC	3.33 ± 1.11	2.35 ± 0.487	7.15 ± 1.85	4.07 ± 1.42
Day 64	NC	NC	3.61 ± 0.545	2.36 ± 0.963	6.15 ± 1.78	3.72 ± 1.49

Values are expressed as the mean ± standard deviation.
d, day; NC, not calculated.

3.2.2　MAAA-1181a の静脈内反復投与後のトキシコキネティクス

3.2.2.1　ラット

3.2.2.1.1　4 週間間歇投与毒性試験

添付資料番号: 4.2.3.7.7-3

MAAA-1181a の 4 週間間歇投与（1 週間に 1 回）毒性試験（GLP 適用）で、静脈内急速投与後の MAAA-1181a の TK を評価した（2.6.6.8.2.1 参照）。

MAAA-1181a の TK パラメータを表 2.6.4.3-5 に示す。MAAA-1181a の C0 及び AUC1d は、3 mg/kg から 30 mg/kg までほぼ投与量に伴って増加した。TK パラメータに反復投与後の明らかな変化や性差は認められなかった。

表 2.6.4.3-5　MAAA-1181a のラット 4 週間間歇静脈内投与毒性試験におけるトキシコキネティクスパラメータ

投与量(mg/kg)	3		10		30	
動物数	雄: 4	雌: 4	雄: 4	雌: 4	雄: 4	雌: 4
C0 (ng/mL)						
Day 1	2910 ± 546	1440 ± 363	14,600 ± 3290	7430 ± 3190	65,100 ± 12,700	43,800 ± 8420
Day 29	4420 ± 1340	2610 ± 1140	13,600 ± 2450	12,100 ± 4840	59,600 ± 12,800	70,200 ± 19,000
AUC1d (ng·d/mL)						
Day 1	27.8 ± 3.08	16.6 ± 3.09	122 ± 28.8	66.9 ± 19.6	536 ± 96.5	396 ± 58.0
Day 29	42.2 ± 12.6	28.9 ± 12.0	134 ± 19.6	108 ± 39.1	520 ± 81.1	596 ± 136
t1/2 (d)						
Day 1	0.0373 ± 0.00621	0.0250 ± 0.0155	0.0518 ± 0.0438	0.0440 ± 0.0283	0.112 ± 0.0454	0.0639 ± 0.0458
Day 29	0.0361± 0.00632	0.0350 ± 0.00549	0.0609 ± 0.0567	0.0312 ± 0.00216	0.121 ± 0.0335	0.0907 ± 0.0102

Values are expressed as the mean ± standard deviation.
d, day.

3.2.2.2　カニクイザル

3.2.2.2.1　4 週間間歇投与毒性試験

添付資料番号: 4.2.3.7.7-4

MAAA-1181a の 4 週間間歇投与（1 週間に 1 回）毒性試験（GLP 適用）で、静脈内急速投与後の MAAA-1181a の TK を評価した（2.6.6.8.2.2 参照）。

MAAA-1181a の TK パラメータを表 2.6.4.3-6 に示す。MAAA-1181a の C0 及び AUC1d は、1 mg/kg から 12 mg/kg までほぼ投与量に伴って増加した。TK パラメータに反復投与後の明らかな変化や性差は認められなかった。

表 2.6.4.3-6　MAAA-1181a のカニクイザル 4 週間間歇静脈内投与毒性試験におけるトキシコキネティクスパラメータ

投与量(mg/kg)	1		3		12	
動物数	雄: 3	雌: 3	雄: 3	雌: 3	雄: 5	雌: 5
C0 (ng/mL)						
Day 1	1560 ± 464	1310 ± 340	8350 ± 1330	5020 ± 1280	36,600 ± 4050	22,800 ± 5470
Day 22	1860 ± 974	1480 ± 789	6730 ± 1470	10,600 ± 5700	52,100 ± 6220[a]	46,900 ± 20,800
AUC1d (ng·d/mL)						
Day 1	18.0 ± 4.12	13.3 ± 2.48	79.1 ± 13.2	47.7 ± 7.50	349 ± 64.2	212 ± 43.0
Day 22	20.2 ± 7.64	15.7 ± 6.34	68.2 ± 13.6	95.2 ± 55.9	473 ± 20.7[a]	384 ± 170[a]
t1/2 (d)						
Day 1	0.0571 ± 0.0319	0.0384 ± 0.00248	0.161 ± 0.00944	0.165 ± 0.0254	0.174 ± 0.0263	0.167 ± 0.0425
Day 22	0.107 ± 0.0592	0.0390 ± 0.000578	0.176 ± 0.0626	0.152 ± 0.0671	0.180 ± 0.0534[a]	0.123± 0.0279

Values are expressed as the mean ± standard deviation.
d, day.
[a] Calculated from 4 animals.

3.2.3　MAAL-9001 の静脈内反復投与後のトキシコキネティクス

3.2.3.1　ラット及びカニクイザル

3.2.3.1.1　6 週間間歇投与毒性試験

添付資料番号: 4.2.3.7.7-5、4.2.3.7.7-6

MAAL-9001（Process 1）の 6 週間間歇投与（3 週間に 1 回）毒性試験（GLP 適用）で、静脈内急速投与後の MAAL-9001 の TK を評価した（2.6.6.8.3.1 及び 2.6.6.8.3.2 参照）。

ラット及びカニクイザルの MAAL-9001 の TK パラメータを表 2.6.4.3-7 に示す。TK パラメータに反復投与後の明らかな変化や性差は認められなかった。ラットでは血漿中の抗 MAAL-9001 抗体はいずれの動物でも検出されなかった。サルでは 78.8 mg/kg を投与した雌 1 例で Day 43 に抗 MAAL-9001 抗体が検出されたが、TK パラメータに影響はみられなかった。

表 2.6.4.3-7　MAAL-9001 のラット及びカニクイザル 6 週間間歇静脈内投与毒性試験におけるトキシコキネティクスパラメータ

動物種	ラット		サル	
投与量 (mg/kg)	197		78.8	
動物数	雄: 4	雌: 4	雄:3	雌: 3
C0 (µg/mL)				
Day 1	5520 ± 378	4510 ± 624	2310 ± 301	2510 ± 187
Day 22	6910 ± 541	5340 ± 486	2720 ± 337	2540 ± 130
AUC21d (µg·d/mL)				
Day 1	22,801 ± 1795	19,412 ± 2311	17,568 ± 2210	15,362 ± 1524
Day 22	28,321 ± 2429	23,573 ± 2190	23,609 ± 3451	19,199 ± 2190
t1/2 (d)				
Day 1	9.28 ± 2.72	10.8 ± 0.985	13.6 ± 3.49	10.1 ± 1.37
Day 22	10.7 ± 0.863	10.2 ± 0.883	15.8 ± 3.28	9.86 ± 2.32

Values are expressed as the mean ± standard deviation.
d, day.

4.　分布

4.1　定量全身オートラジオルミノグラフィー

4.1.1　カニクイザルに［^{3}H］標識 DS-8201a を単回静脈内投与後の定量全身オートラジオルミノグラフィー

添付資料番号: 4.2.2.3-1

非絶食下の雄性カニクイザル（1 例／時点）に ^{3}H-DS-8201a（抗体部分の[^{3}H]標識体）を 6.4 mg/kg の投与量で単回静脈内投与後、投与 1 日後及び 14 日後の放射能の組織分布を全身オートラジオルミノグラフィーにより評価した。

ドライ法（燃焼法）により検出された血漿中放射能及びトリクロロ酢酸沈殿により検出された血漿中放射能は、ウェット法（総放射能）により検出された値とほぼ同程度だった。したがって、$^{3}H_2O$ はほとんど産生されず、^{3}H は遊離しなかったと考えられる。投与 1 日後及び 14 日後の組織中放射能濃度（単位面積当たりの発光強度［PSL/mm^{2}］）を表 2.6.4.4-1 に示す。全試験期間を通して放射能が最も高かった組織は血液であった。放射能は、血液に次いで、腎臓、肺、肝臓のような血流量の多い組織に分布したが、放射能の組織／血液比は全ての組織で 1 未満であった。いずれの組織中の放射能も、投与 14 日後までに、血中放射能の低下に伴い低下し、特定の組織への残留性は認められなかった。

表 2.6.4.4-1　非絶食下の雄性カニクイザルに［^{3}H］標識 DS-8201a を単回静脈内投与後の組織中放射能濃度

Tissues/Organs	Radioactivity Concentration (PSL/mm^2)	Tissue/blood Ratio	Radioactivity Concentration (PSL/mm^2)	Tissue/blood Ratio
	1 day		14 days	
Adrenal gland	12.60	0.61	1.83	0.45
Blood	20.78	1.00	4.03	1.00
Bone	0.16	0.01	0.08	0.02
Bone marrow	4.65	0.22	0.80	0.20
Brown fat	2.63	0.13	0.78	0.19
Cerebellum	0.35	0.02	0.02	0.00
Cerebrum	0.14	0.01	0.00	0.00
Epididymis	11.24	0.54	1.51	0.37
Eyeball	1.37	0.07	0.19	0.05
Fat	0.00	0.00	0.02	0.00
Gastric contents	0.08	0.00	0.00	0.00
Heart	8.48	0.41	1.05	0.26
Kidney	19.84	0.95	1.93	0.48
Large intestinal contents	0.13	0.01	0.09	0.02
Large intestine	3.17	0.15	0.38	0.09
Liver	14.94	0.72	2.44	0.61
Lung	18.89	0.91	3.52	0.87
Mandibular gland	2.72	0.13	0.69	0.17
Pancreas	4.55	0.22	0.45	0.11
Pituitary gland	3.80	0.18	0.17	0.04
Prostate gland	10.59	0.51	NS	NC
Skeletal muscle	0.53	0.03	0.10	0.02
Skin	0.63	0.03	0.19	0.05
Small intestinal contents	0.42	0.02	0.04	0.01
Small intestine	5.17	0.25	0.43	0.11
Spleen	10.60	0.51	2.24	0.56
Stomach	3.63	0.17	0.48	0.12
Testis	6.23	0.30	1.06	0.26
Thymus	2.17	0.10	0.64	0.16
Thyroid gland	6.29	0.30	0.32	0.08
Urinary bladder	0.74	0.04	0.70	0.17
Urine in bladder	9.47	0.46	NS	NC

NC, not calculated; NS, not specified; PSL, photo-stimulated luminescence.

4.1.2　カニクイザルに［^{14}C］標識 DS-8201a を単回静脈内投与後の定量全身オートラジオルミノグラフィー

添付資料番号: 4.2.2.3-2

非絶食下の雄性カニクイザル（1 例／時点）に ^{14}C-DS-8201a（薬物部分の[^{14}C]標識体）を 6.4 mg/kg の投与量で単回静脈内投与後、投与 1 日後及び 14 日後までの放射能の組織分布を定量全身オートラジオルミノグラフィーにより評価した。

投与 1 日後及び 14 日後の組織中放射能濃度を表 2.6.4.4-2 に示す。投与 1 日後に最も放射能が高かった組織は、排泄部位である大腸内容物（6.1.1 参照）を除いて血液であり、次いで高い順に肺、腎臓、副腎、肝臓、脾臓、小腸内容物であった。ただし、これらの組織の放射能の組織／血液比は 1 未満であった。放射能は、検討した組織において脳が最も低値であった。いずれの組織中の放射能も、投与後 14 日目までに血中放射能の低下に伴い低下し、特定の組織への残留性は認められなかった。

表 2.6.4.4-2　非絶食下の雄性カニクイザルに［^{14}C］標識 DS-8201a を単回静脈内投与後の組織中放射能濃度

Tissues/Organs	Radioactivity Concentration (μg eq. of DS-8201a/g tissue)	Tissue/ blood Ratio	Radioactivity Concentration (μg eq. of DS-8201a/g tissue)	Tissue/ blood Ratio
	1 day		14 days	
Adrenal gland	24.1	0.43	2.00	0.64
Blood	56.0	1.00	3.14	1.00
Bone	1.65	0.03	0.418	0.13
Bone marrow	7.48	0.13	0.543	0.17
Brown fat	7.93	0.14	0.689	0.22
Cerebellum	0.488	0.01	BLQ	NC
Cerebrum	0.366	0.01	BLQ	NC
Epididymis	15.2	0.27	1.25	0.40
Eyeball	1.33	0.02	0.489	0.16
Fat	1.55	0.03	0.334	0.11
Gastric contents	BLQ	NC	1.14	0.36
Heart	14.4	0.26	1.10	0.35
Kidney	24.5	0.44	2.08	0.66
Large intestinal contents	139	2.48	5.86	1.87
Large intestine	4.03	0.07	0.843	0.27
Liver	23.4	0.42	2.76	0.88
Lung	39.6	0.71	3.01	0.96
Mandibular gland	7.32	0.13	0.774	0.25
Pancreas	10.2	0.18	0.632	0.20
Pituitary gland	9.79	0.17	1.11	0.35
Prostate gland	12.1	0.22	NS	NC
Skeletal muscle	1.19	0.02	BLQ	NC
Skin	4.71	0.08	0.590	0.19
Small intestinal contents	17.9	0.32	NS	NC
Small intestine	12.7	0.23	0.843	0.27
Spleen	22.0	0.39	2.12	0.68
Stomach	11.4	0.20	1.18	0.38
Testis	9.48	0.17	0.793	0.25
Thymus	6.14	0.11	0.585	0.19
Thyroid gland	4.62	0.08	BLQ	NC
Urinary bladder	2.85	0.05	0.728	0.23
Urine in bladder	8.91	0.16	NS	NC

Lower limit of quantification = 0.330 μg eq. of DS-8201a/g tissue.
Upper limit of quantification = 648 μg eq. of DS-8201a/g tissue.
BLQ, below the lower limit of quantification; eq., equivalent; NC, not calculated; NS, not specified.

4.2　In vitro 血漿タンパク結合

添付資料番号: 4.2.2.3-3

マウス、ラット、サル、及びヒトの血漿（各 3 例）における MAAA-1181a（10、30、及び

100 ng/mL）の血漿タンパク結合を、超遠心法により検討した。

血漿タンパク結合率の平均値はマウスで 90.3%～92.5%、ラットで 94.2%～96.7%、サルで 86.5%～89.1%、ヒトで 96.8%～98.0%であった。

4.3　In vitro 血球移行性

添付資料番号: 4.2.2.3-4

マウス、ラット、サル、及びヒトの血液（各 3 例）における ^{14}C-MAAA-1181a（10、30、及び 100 ng/mL）の in vitro 血球移行性を検討した。

^{14}C-MAAA-1181a の放射能の血球移行率は、マウスで 31.6%～33.8%、ラットで 27.8%～32.7%、サルで 36.4%～39.7%、及びヒトで 13.0%～17.7%であった。血液／血漿中放射能濃度比は、マウスで 0.82～0.85、ラットで 0.81～0.87、サルで 0.92～0.95、ヒトで 0.59～0.62 であった。

5.　代謝（種間比較）

5.1　In vitro 代謝プロファイル

5.1.1　DS-8201a のマウス、ラット、サル、及びヒトの血漿中における in vitro 安定性

添付資料番号: 4.2.2.4-1

マウス、ラット、サル、及びヒト血漿、並びに 1%ウシ血清アルブミン含有リン酸緩衝生理食塩液（pH7.0～7.3）中で DS-8201a（終濃度 10 及び 100 µg/mL）を 37°C で 21 日間インキュベートし、0、1、3、7、14、及び 21 日目に遊離した MAAA-1181a 量を LC-MS/MS で測定した。

DS-8201a から遊離した MAAA-1181a の割合は、10 及び 100 µg/mL でほぼ同程度であり、種差もなく、いずれの種でも 3.9%以下であった（表 2.6.4.5-1）。

表 2.6.4.5-1　DS-8201a を血漿及び緩衝液と 21 日間インキュベーション後の MAAA-1181a の生成率

DS-8201a 濃度（µg/mL）	10	100
マウス血漿	1.2%	1.2%
ラット血漿	1.8%	1.7%
サル血漿	3.9%	3.5%
ヒト血漿	2.1%	1.5%
リン酸緩衝生理食塩液（pH7.0～7.3）＋1%ウシ血清アルブミン	0.3%	0.4%

%Theoretical release rate = Cumulative amount of MAAA-1181a released/Initial amount of MAAA-1181a in DS-8201a (theoretical).

5.1.2　DS-8201a のラット、サル、及びヒト凍結肝細胞における in vitro 代謝

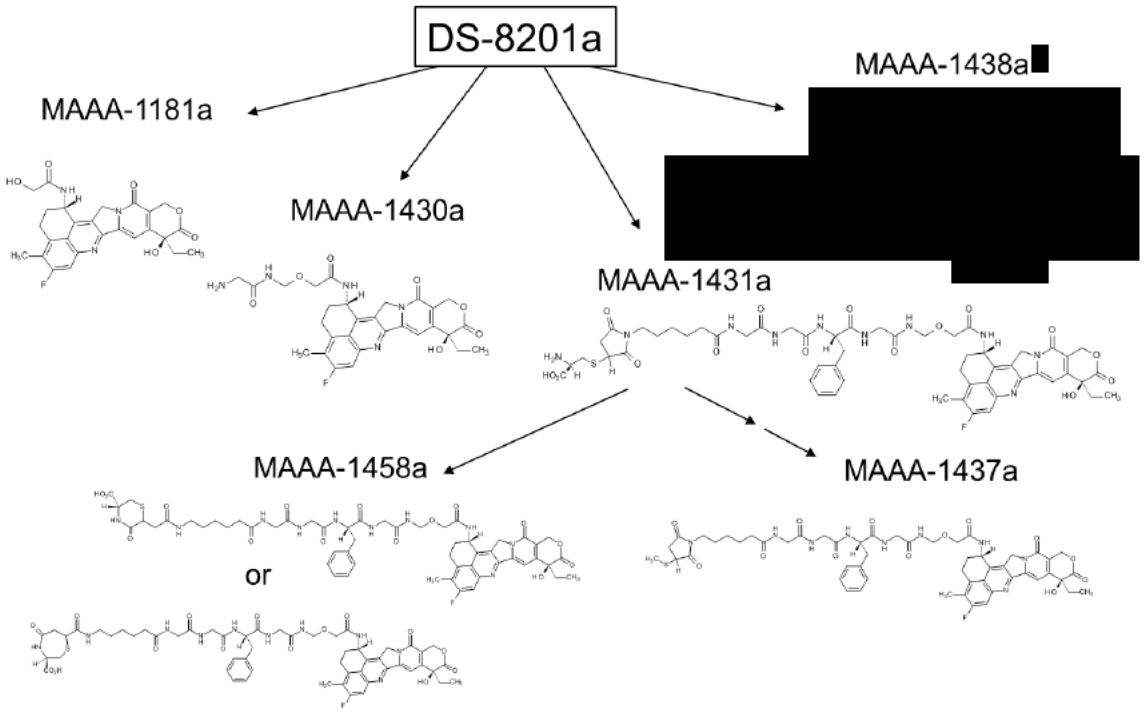
添付資料番号: 4.2.2.4-2

ラット、サル、及びヒトの凍結肝細胞中で DS-8201a（Process 1 [redacted]）を終濃度 0.49 mg/mL、37°C で 6 時間インキュベートし、DS-8201a 由来の低分子性代謝物の構造を解析した。代謝物ピークは蛍光 HPLC で検出し、LC-MS で解析した。

いずれの動物種でも 6 種の代謝物ピークが検出され、ヒト特異的代謝物は認められなかった。主な生成ピークは MAAA-1181a、MAAA-1181a のメチルグリシンアミド体（MAAA-1430a）、薬物リンカーのシステイン抱合体（MAAA-1431a）とその異性体（MAAA-1458a）、同スクシンイミド体（MAAA-1438a）、及びチオメチレート体（MAAA-1437a）であった。最も主要なピークである MAAA-1181a の生成率は、ヒト凍結肝細胞と 6 時間インキュベーション後の時点においても、DS-8201a に結合している MAAA-1181a 量のわずか 0.1%であった。したがって、DS-8201a は代謝的に安定であると考えられた。

推定される in vitro 代謝経路を図 2.6.4.5-1 に示す。

図 2.6.4.5-1　凍結肝細胞における推定 in vitro 代謝経路



5.2　In vivo 代謝プロファイル

5.2.1　カニクイザルに［^{14}C］標識 DS-8201a を単回静脈内投与後の血漿中、尿中、及び糞中代謝プロファイル

添付資料番号: 4.2.2.4-3

非絶食下の雄性カニクイザル（1 例）に ^{14}C-DS-8201a を 6.4 mg/kg の投与量で単回静脈内投与後、血漿は投与 5 分、1、3、5、7、9、11、及び 13 日後まで、尿及び糞は投与 2 日間ごとに 6 日後まで採取し、ラジオ HPLC 及び LC-MS を用いて解析した。

全時点の血漿サンプルにおいて、DS-8201a 由来の低分子性代謝物に相当するアセトニトリルで抽出される放射能の割合は、血漿全体の放射能の 1.1%未満であった。血漿中の放射性成分はほとんど高分子量の分画として沈殿し、MAAA-1181a の大部分は血漿中で抗体に結合していることが示唆された。アセトニトリルで抽出される放射能の割合が小さいため、ラジオ HPLC により血漿の抽出物の代謝プロファイルを決定することは難しいと考えられた。尿中及び糞中で検出された唯一の異化生成物は MAAA-1181a であった。

5.2.2　ラットに［^{14}C］標識 MAAA-1181a を単回静脈内投与後の尿中、糞中、及び胆汁中代謝プロファイル

添付資料番号: 4.2.2.4-4

非絶食下の雄性ラット（3 例）に ^{14}C-MAAA-1181a を 1 mg/kg の投与量で単回静脈内投与後、尿及び糞（胆管カニューレ未挿入ラット）、並びに胆汁（胆管カニューレ挿入ラット）を投与 2 日後まで採取し、ラジオ LC-MS を用いて分析した。

尿中、糞中、及び胆汁中の主な放射性成分は MAAA-1181a であった。なお、投与量の 1.1%を超える代謝物ピークはすべての検体で検出されなかった（表 2.6.4.5-2）。

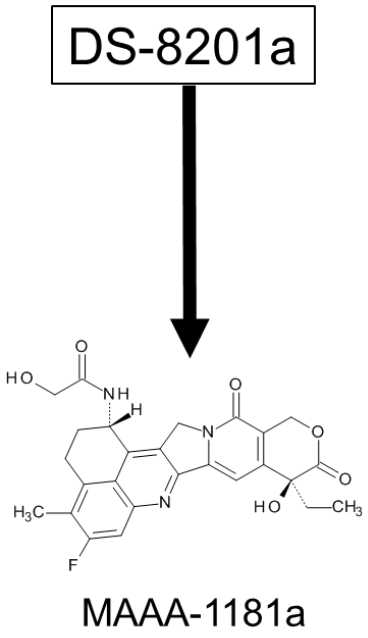
表 2.6.4.5-2　ラットの尿中、糞中、及び胆汁中の代謝物

代謝物	投与後 2 日間の累積排泄率 (% of Dose)		
	尿	糞	胆汁 [a]
MAAA-1181a	23.4	61.1	63.7
Peak 2[b]	ND	1.1	ND
Total	27.1	69.7	71.6

ND, not detected (The value was below the lower limit of quantification.).
[a] Bile was collected from bile duct-cannulated rats
[b] The structure was unidentified.

推定される DS-8201a の in vivo 代謝／異化経路を図 2.6.4.5-2 に示す。

図 2.6.4.5-2　推定 in vivo 代謝／異化経路



MAAA-1181a

6. 排泄

6.1 DS-8201a の排泄

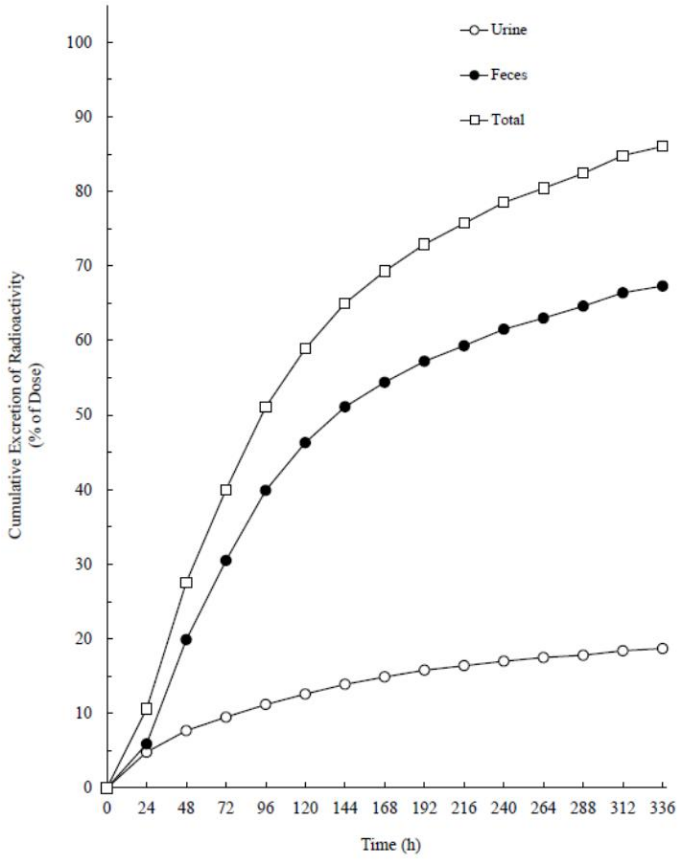
6.1.1 カニクイザルに ^{14}C-標識 DS-8201a を単回静脈内投与後の放射能の尿中及び糞中排泄

添付資料番号: 4.2.2.3-2

非絶食下の雄性カニクイザル（1 例）に ^{14}C-DS-8201a を 6.4 mg/kg の投与量で単回静脈内投与後、投与 14 日後までの放射能の尿中及び糞中排泄を LSC により評価した。

投与 14 日後までに、投与した放射能の 86.0%（尿中排泄率 18.7%、糞中排泄率 67.3%）が体内から排泄され、^{14}C-DS-8201a 投与後の放射能の主排泄経路は糞中排泄であることが示された（図 2.6.4.6-1）。

図 2.6.4.6-1　カニクイザルに［^{14}C］標識 DS-8201a を単回静脈内投与後の尿中及び糞中累積放射能排泄率



6.2　MAAA-1181a の排泄

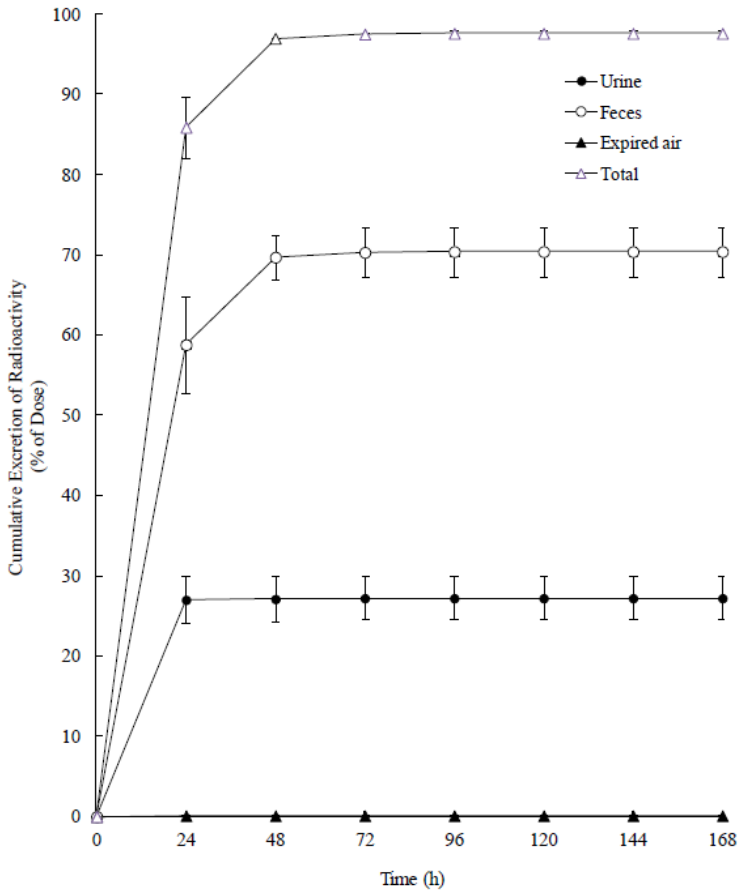
6.2.1　ラットに［^{14}C］標識 MAAA-1181a を単回静脈内投与後の放射能の尿中、糞中、及び呼気中排泄

添付資料番号: 4.2.2.5-1

非絶食下の雄性ラット(3 例)に ^{14}C-MAAA-1181a を 1 mg/kg の投与量で単回静脈内投与後、投与 7 日後までの放射能の尿中、糞中、及び呼気中排泄を LSC により評価した。

投与 2 日後までに、投与した放射能の 96.9%（尿中排泄率 27.1%、糞中排泄率 69.7%、呼気中排泄率 0.1%）が体内から排泄された。投与 7 日後までに、投与した放射能の 97.6%（尿中排泄率 27.2%、糞中排泄率 70.4%、呼気中排泄率 0.1%）が排泄された（図 2.6.4.6-2）。これらの結果より、^{14}C-MAAA-1181a 投与後の放射能の主排泄経路は糞中排泄であることが示された。

図 2.6.4.6-2　ラットに［^{14}C］標識 MAAA-1181a を単回静脈内投与後の尿中、糞中、及び呼気中累積放射能排泄率



The data are expressed as the mean ± standard deviation (n = 3).

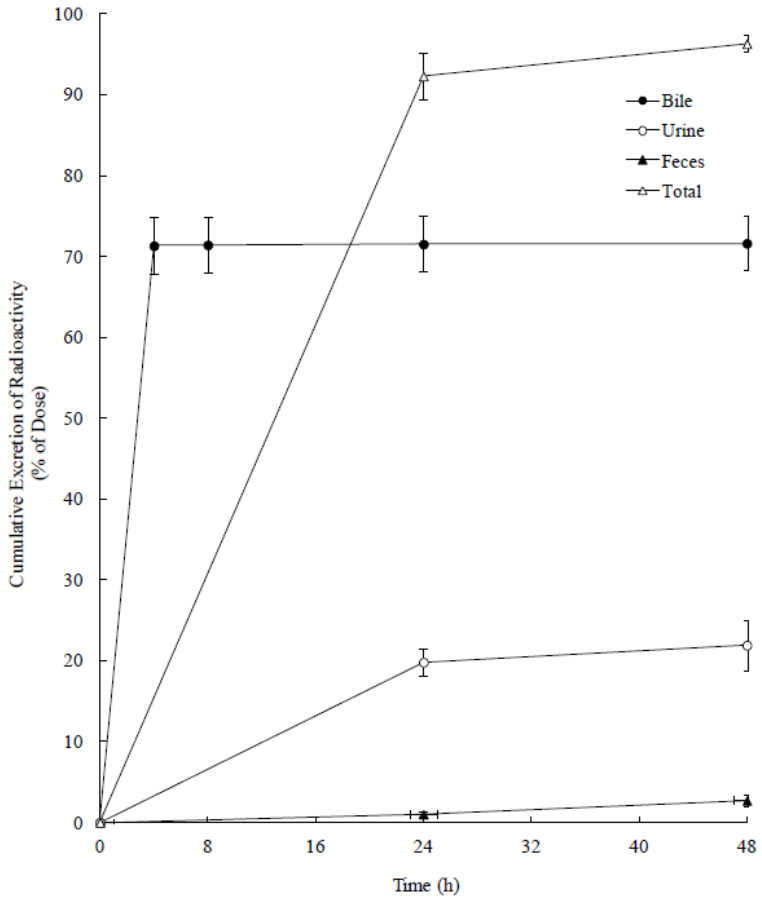
6.2.2　胆管カニューレ挿入ラットに［^{14}C］標識 MAAA-1181a を単回静脈内投与後の放射能の胆汁中、尿中、及び糞中排泄

添付資料番号: 4.2.2.5-2

胆管カニューレを施した非絶食下の雄性ラット（3 例）に ^{14}C-MAAA-1181a を 1 mg/kg の投与量で単回静脈内投与後、投与 2 日後までの放射能の胆汁中、尿中、及び糞中排泄を LSC により評価した。

投与 1 日後までに、投与した放射能の 92.3%（胆汁中排泄率 71.5%、尿中排泄率 19.8%、糞中排泄率 1.0%）が体内から排泄された。投与 2 日後までに、投与した放射能の 96.3%（胆汁中排泄率 71.6%、尿中排泄率 21.9%、糞中排泄率 2.7%）が排泄された（図 2.6.4.6-3）。これらの結果より、^{14}C-MAAA-1181a 投与後の放射能の主排泄経路は胆汁中排泄であることが示された。

図 2.6.4.6-3　ラットに［^{14}C］標識 MAAA-1181a を単回静脈内投与後の胆汁中、尿中、及び糞中累積放射能排泄率



The data are expressed as the mean ± standard deviation (n = 3).

7.　薬物動態学的薬物相互作用

In vitro 薬物動態学的薬物相互作用はヒト生体試料を用いて検討し、2.7.2 に記載した。

8. その他の薬物動態試験

8.1 原薬間の薬物動態の比較

8.1.1 カニクイザルに DS-8201a（Process 1）又は DS-8201a（Process 2）を単回静脈内投与後の薬物動態

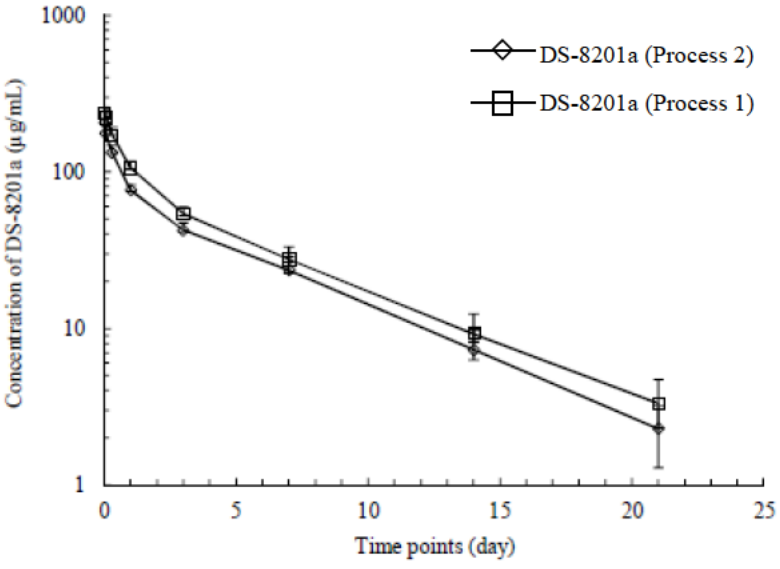
添付資料番号: 4.2.2.7-1、4.2.2.7-2

雄性カニクイザル（各群 12 例）に絶食下で DS-8201a（Process 1 [redacted]）又は DS-8201a（Process 2 [redacted]）を 8.0 mg/kg の投与量で単回静脈内投与後、DS-8201a、総抗体、及び MAAA-1181a の薬物動態を検討した。DS-8201a、総抗体、抗 DS-8201a 抗体、及び MAAA-1181a の血漿中濃度を投与前から投与 21 日後まで測定した（投与 0.083、1、7 時間後、並びに 1、3、7、14、及び 21 日後）。

結果を図 2.6.4.8-1 及び表 2.6.4.8-1 に示す。DS-8201a に関して、DS-8201a（Process 1）に対する DS-8201a（Process 2）の Cmax、AUCinf、及び AUC21d の幾何平均比（90%信頼区間［confidence interval: CI］）は、それぞれ 0.865（0.809～0.925）、0.779（0.700～0.867）、及び 0.784（0.709～0.867）であった。投与 21 日後まで、両原薬に対する抗 DS-8201a 抗体の産生はいずれの動物においても認められなかった。

図 2.6.4.8-1 雄性カニクイザルに DS-8201a（Process1）又は DS-8201a（Process 2）を単回静脈内投与後の DS-8201a、総抗体、及び MAAA-1181a の血漿中濃度時間推移（1/2）

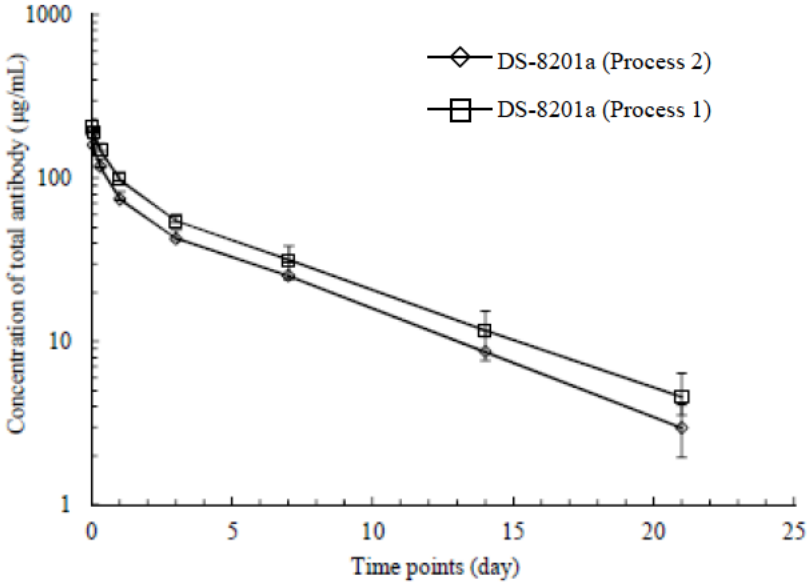
DS-8201a



The data are expressed as the mean ± standard deviation (n = 12).

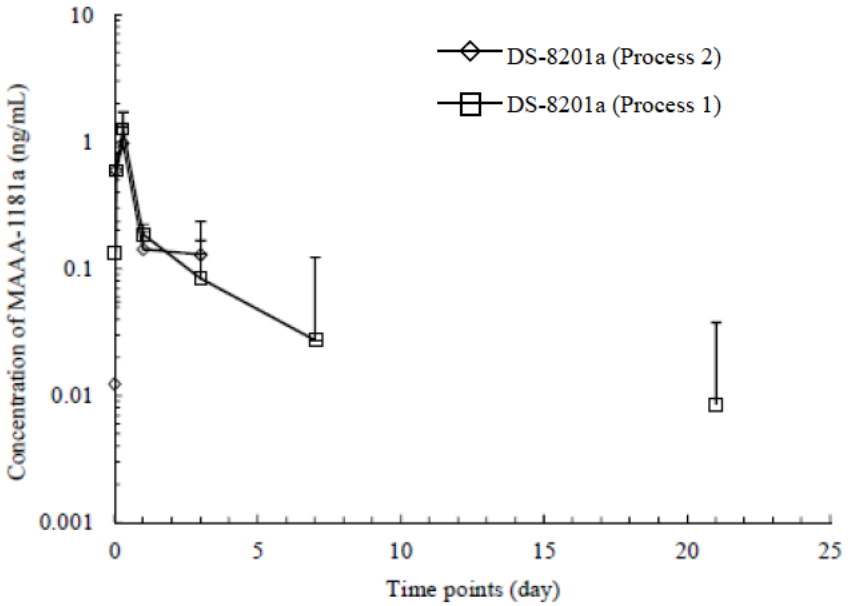
図 2.6.4.8-1　雄性カニクイザルに DS-8201a（Process1）又は DS-8201a（Process 2）を単回静脈内投与後の DS-8201a、総抗体、及び MAAA-1181a の血漿中濃度時間推移（2/2）

総抗体



The data are expressed as the mean ± standard deviation (n = 12).

MAAA-1181a



The data are expressed as the mean + standard deviation (n = 12).

表 2.6.4.8-1　雄性カニクイザルに DS-8201a（Process1）又は DS-8201a（Process 2）を単回静脈内投与後の DS-8201a、総抗体、及び MAAA-1181a の薬物動態パラメータ

	DS-8201a (Process 1)	DS-8201a (Process 2)	Ratio[a]	90% CI[b]
DS-8201a				
Cmax (μg/mL)	235 ± 22	203 ± 20	0.865	0.809 - 0.925
C21d (μg/mL)	3.29 ± 1.39	2.28 ± 0.92	0.658	0.442 - 0.979
AUCinf (μg·d/mL)	670 ± 97	523 ± 79	0.779	0.700 - 0.867
AUC21d (μg·d/mL)	647 ± 87	509 ± 73	0.784	0.709 - 0.867
t1/2 (d)	4.54 ± 0.48	4.09 ± 0.54	-	-
Kel (/d)	0.154 ± 0.017	0.172 ± 0.026	-	-
CL (mL/d/kg)	12.2 ± 1.7	15.7 ± 2.8	-	-
Vss (mL/kg)	60.8 ± 5.8	76.4 ± 4.9	-	-
総抗体				
Cmax (μg/mL)	210 ± 20	185 ± 13	-	-
AUCinf (μg·d/mL)	701 ± 107	539 ± 90	-	-
AUC21d (μg·d/mL)	668 ± 91	519 ± 82	-	-
t1/2 (d)	4.95 ± 0.58	4.45 ± 0.63	-	-
Kel (/d)	0.142 ± 0.017	0.159 ± 0.027	-	-
MAAA-1181a				
Cmax (ng/mL)	1.25 ± 0.44	0.963 ± 0.344	-	-
AUClast (ng·d/mL)	1.08 ± 0.51	0.833 ± 0.359	-	-
Tmax (d)	0.292 ± 0.000	0.271 ± 0.072	-	-

Values are mean ± standard deviation (n =12).
-: not applicable; d, day.
[a] geometric mean ratio of DS-8201a (Process 2)/DS-8201a (Process 1)
[b] lower – upper

9. 考察及び結論

DS-8201a、総抗体、及び MAAA-1181a の薬物動態をラット及びカニクイザルを用いた様々な試験で評価し、DS-8201a の各構成成分の薬物動態を検討した。カニクイザルにおいて、DS-8201a を 0.1～3 mg/kg で静脈内投与後の DS-8201a の CL（14.0～55.7 mL/d/kg）は、肝血流量に比べ極めて低く、用量の増加とともに低下したことから、非線形性な消失過程が示唆された。Vss（30.6～55.4 mL/kg）は血漿容積とほぼ同程度であった。DS-8201a と総抗体は、同様の薬物動態プロファイルを示し、DS-8201a は投与後、大部分が ADC として安定に血漿中に存在すると考えられた。DS-8201a から遊離した薬物 MAAA-1181a の血漿中濃度は、DS-8201a や総抗体に比べ極めて低かった（モル比: 約 1/400）。間歇投与毒性試験では、反復投与後の TK に明らかな変化や性差は認められなかった。抗 DS-8201a 抗体はいずれの動物でも検出されなかった。

カニクイザルに ^{3}H-DS-8201a（抗体部分の ^{3}H 標識体）又は ^{14}C-DS-8201a（薬物部分の ^{14}C 標識体）を 6.4 mg/kg で単回静脈内投与後、全試験期間中で放射能が最も高かった組織は血液であった。放射能は、血液に次いで、腎臓、肺、肝臓のような血流量の多い組織に比較的高く分布したが、これらの臓器における放射能の組織／血液比はいずれも 1 未満で、組織分布は低かった（ただし、^{14}C-DS-8201a 投与時における大腸内容物［排泄部位］を除く）。いずれの組織中の放射能も、血中放射能の低下に伴い低下し、特定の組織への残留性は認められなかった。MAAA-1181a（10～100 ng/mL）の in vitro 血漿タンパク結合率は、マウスで 90.3%～92.5%、ラットで 94.2%～96.7%、サルで 86.5%～89.1%、ヒトで 96.8%～98.0%であった。^{14}C-MAAA-1181a（10～100 ng/mL）の放射能の in vitro 血球移行率は、マウスで 31.6～33.8%、ラットで 27.8～32.7%、サルで 36.4～39.7%、ヒトで 13.0～17.7%であった。

DS-8201a を用いたマウス、ラット、サル、及びヒトの in vitro 血漿中安定性試験では、血漿に DS-8201a を添加後 3 週間の時点で、遊離した MAAA-1181a の割合は 3.9%以下であった。ラット、サル、及びヒトの凍結肝細胞を用いた in vitro 代謝系において、ヒト特異的な DS-8201a の代謝物は検出されず、DS-8201a は代謝的に安定だと考えられた。

ラットにおいて、^{14}C-MAAA-1181a を 1 mg/kg で単回静脈内投与後の放射能の主排泄経路は胆汁を介した糞中排泄であり、ラットの尿中、糞中、及び胆汁中の主な放射性成分は MAAA-1181a であった。サルにおいて、^{14}C-DS-8201a を 6.4 mg/kg で単回静脈内投与後の放射能の主排泄経路は糞中排泄であり、サルの糞中及び尿中の主な異化生成物は MAAA-1181a であった。

DS-8201a の乳汁移行及び胎盤通過は検討しなかった。ただし、トラスツズマブでは、カニクイザルで羊水、胎児、及び乳汁への移行が報告されている [1]。DS-8201a の抗体部分はトラスツズマブと同じアミノ酸配列であることから、DS-8201a も羊水、胎児、及び乳汁へ移行する可能性が考えられる。

DS-8201a（Process 1）又は DS-8201a（Process 2）を 8.0 mg/kg で単回静脈内投与後の薬物動態を比較した。DS-8201a（Process 1）に対して DS-8201a（Process 2）の Cmax は生物学的同等性のクライテリアを満たしたが、DS-8201a（Process 2）の AUC21d は約 22%低かった。

抗 DS-8201a 抗体の産生は認められなかった。

10. 参考文献

1. ハーセプチン注射用 150 申請資料概要 [Internet]. 中外製薬株式会社; 平成 13 年 4 月承認 [cited 2019 Mar 16]. Available from: http://www.pmda.go.jp/drugs/2001/P200100003/index.html

目次

1. 薬物動態試験：一覧表 2
2. 分析方法及びバリデーション試験 8
3. 薬物動態試験： 吸収：単回投与 13
3.1 サルに単回静脈内投与後の薬物動態 13
4. 薬物動態試験：吸収：反復投与 14
5. 薬物動態試験：分布 15
5.1 ［^{3}H］標識 DS-8201a のサル定量全身オートラジオルミノグラフィー 15
5.2 ［^{14}C］標識 DS-8201a のサル定量全身オートラジオルミノグラフィー 17
6. 薬物動態試験：タンパク結合 19
6.1 MAAA-1181a の血漿タンパク結合 19
7. 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 20
8. 薬物動態試験：その他の分布試験 21
8.1 ［^{14}C］標識 MAAA-1181a の血球分布 21
9. 薬物動態試験：代謝：In Vivo 22
9.1 サルに［^{14}C］標識 DS-8201a を単回静脈内投与後の代謝物構造解析 22
9.2 ラットに［^{14}C］標識 MAAA-1181a を単回静脈内投与後の代謝物構造解析 23
10. 薬物動態試験：代謝：*In Vitro* 24
10.1 マウス、ラット、サル、及びヒト血漿並びに緩衝液における DS-8201a の安定性 24
10.2 ラット、サル、及びヒト凍結肝細胞の代謝プロファイル 25
11. 薬物動態試験：推定代謝経路 26
12. 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 27
13. 薬物動態試験：排泄 28
13.1 サルに［^{14}C］標識 DS-8201a を単回静脈内投与後の尿中及び糞中排泄 28
13.2 ラットに［^{14}C］標識 MAAA-1181a を単回静脈内投与後の尿中、糞中、及び呼気中排泄 29
14. 薬物動態試験：排泄：胆汁中 30
14.1 胆管カニューレ挿入ラットに［^{14}C］標識 MAAA-1181a を単回静脈内投与後の胆汁中、尿中、及び糞中排泄、 30
15. 薬物動態試験：薬物相互作用 31
16. 薬物動態試験：その他 32
16.1 サルに単回静脈内投与後の薬物動態 32

1.　薬物動態試験：一覧表（1/6）

Type of Study	Test System	Test Article	Method of Administration	Testing Facility	Attachment Number	Location in CTD
	Analytical Method					
Validation of ligand binding assay method to determine DS-8201a and total antibody concentrations for pharmacokinetic analysis in mice	Mouse plasma	Not applicable	Not applicable	[redacted] apan	4.2.2.1-1	4.2.2.1
Validation of ligand binding assay method to determine DS-8201a and total antibody concentrations for toxicokinetic analysis in rats	Rat plasma	Not applicable	Not applicable	[redacted] Japan	4.2.2.1-2	4.2.2.1
Validation of ligand binding assay method to determine DS-8201a and total antibody concentrations for toxicokinetic analysis in monkeys	Cynomolgus monkey plasma	Not applicable	Not applicable	[redacted] Japan	4.2.2.1-3	4.2.2.1
Validation of ECLA method to determine anti-DS-8201a antibody and anti-MAAL-9001 antibody concentrations for toxicokinetic analysis in rats	Rat plasma	Not applicable	Not applicable	[redacted] Japan	4.2.2.1-4	4.2.2.1
Validation of ECLA method to determine anti-DS-8201a antibody and anti-MAAL-9001 antibody concentrations for toxicokinetic analysis in monkeys	Cynomolgus monkey plasma	Not applicable	Not applicable	[redacted] Japan	4.2.2.1-5	4.2.2.1

1.　薬物動態試験：一覧表（2/6）

Type of Study	Test System	Test Article	Method of Administration	Testing Facility	Attachment Number	Location in CTD
Validation of LC-MS/MS method to determine MAAA-1181a concentrations for stability analysis	Human and mouse plasma, and buffer	Not applicable	Not applicable	[redacted] Japan	4.2.2.1-6	4.2.2.1
Validation of LC-MS/MS method to determine MAAA-1181a concentrations for protein binding analysis	Plasma supernatant	Not applicable	Not applicable	[redacted] Japan	4.2.2.1-7	4.2.2.1
Validation of LC-MS/MS method to determine MAAA-1181a concentrations for toxicokinetic analysis in rats	Rat plasma	Not applicable	Not applicable	[redacted] Japan	4.2.2.1-8	4.2.2.1
Validation of LC-MS/MS method to determine MAAA-1181a concentrations for toxicokinetic analysis in monkeys	Monkey plasma	Not applicable	Not applicable	[redacted] Japan	4.2.2.1-9	4.2.2.1
Validation of LC-MS/MS method to determine MAAA-1181a concentrations for toxicokinetic analysis in rats and monkeys	Rat and monkey plasma	Not applicable	Not applicable	[redacted] Japan	4.2.2.1-10	4.2.2.1
Absorption						
PK profile after single intravenous administration of DS-8201a to cynomolgus monkeys	Cynomolgus monkeys	DS-8201a (Process 1 [redacted])	Intravenous, single dose	[redacted] Japan	4.2.2.2-1	4.2.2.2

LC-MS/MS, liquid chromatography-tandem mass spectrometry; PK, pharmacokinetic.

1.　薬物動態試験：一覧表（3/6）

Type of Study	Test System	Test Article	Method of Administration	Testing Facility	Attachment Number	Location in CTD
TK profile in rat plasma in the 6-week intermittent dose toxicity study of DS-8201a	Crl:CD(SD) rats	DS-8201a (Process 1 [redacted])	Intravenous, q3w for 6 weeks (3 dosings)	[redacted] Japan	4.2.3.2-1	4.2.3.2
TK profile in monkey plasma in the 6-week intermittent dose toxicity study of DS-8201a	Cynomolgus monkeys	DS-8201a (Process 1 ([redacted]))	Intravenous, q3w for 6 weeks (3 dosings)	[redacted] Japan	4.2.3.2-2	4.2.3.2
TK profile in monkey plasma in the 3-month intermittent dose toxicity study of DS-8201a (Process 2)	Cynomolgus monkeys	DS-8201a (Process 2 [redacted])	Intravenous, q3w for 3 months (5 dosings)	[redacted] Japan	4.2.3.2-4	4.2.3.2
TK profile in rat plasma in the 4-week intermittent dose toxicity study of MAAA-1181a	Crl:CD(SD) rats	MAAA-1181a monohydrate[a]	Intravenous, qw for 4 weeks (5 dosings)	[redacted] Japan	4.2.3.7.7-3	4.2.3.7.7
TK profile in monkey plasma in the 4-week intermittent dose toxicity study of MAAA-1181a	Cynomolgus monkeys	MAAA-1181a monohydrate[a]	Intravenous, qw for 4 weeks (5 dosings)	[redacted] Japan	4.2.3.7.7-4	4.2.3.7.7
TK profile in rat plasma in the 6-week intermittent dose toxicity study of MAAL-9001	Crl:CD(SD) rats	MAAL-9001 (Process 1 [redacted])	Intravenous, q3w for 6 weeks (3 dosings)	[redacted] Japan	4.2.3.7.7-5	4.2.3.7.7

q3w, once every 3 weeks; qw, once weekly; TK, toxicokinetic.
[a] MAAA-1181a monohydrate was referred to MAAA-1181d in the report.

1.　薬物動態試験：一覧表（4/6）

Type of Study	Test System	Test Article	Method of Administration	Testing Facility	Attachment Number	Location in CTD
TK profile in monkey plasma in the 6-week intermittent dose toxicity study of MAAL-9001	Cynomolgus monkeys	MAAL-9001 (Process 1 [redacted])	Intravenous, q3w for 6 weeks (3 dosings)	[redacted] Japan	4.2.3.7.7-6	4.2.3.7.7
Distribution						
Quantitative whole-body autoradioluminography after single intravenous administration of ^{3}H-DS-8201a to monkeys	Cynomolgus monkeys	^{3}H-DS-8201a ([redacted])	Intravenous, single dose	[redacted] Japan	4.2.2.3-1	4.2.2.3
Quantitative whole-body autoradioluminography after single intravenous administration of ^{14}C-DS-8201a to monkeys	Cynomolgus monkeys	^{14}C-DS-8201a ([redacted])	Intravenous, single dose	[redacted] Japan	4.2.2.3-2	4.2.2.3
Plasma protein binding of MAAA-1181a	Mouse, rat, monkey, and human plasma	3/10 C_2H_3N 2/5 CH_4O 3/10 H_2O adduct of MAAA-1181a[a]	In vitro	[redacted] Japan	4.2.2.3-3	4.2.2.3
Blood cell distribution of ^{14}C-MAAA-1181a	Mouse, rat, monkey, and human blood	^{14}C-MAAA-1181a	In vitro	[redacted] Japan	4.2.2.3-4	4.2.2.3

TK, toxicokinetic.
[a] 3/10 C_2H_3N 2/5 CH_4O 3/10 H_2O adduct of MAAA-1181a was referred to MAAA-1181c in the report.

1.　薬物動態試験：一覧表（5/6）

Type of Study	Test System	Test Article	Method of Administration	Testing Facility	Attachment Number	Location in CTD
Metabolism						
Study on DS-8201a stability in mouse, rat, monkey and human plasma and buffer	Mouse, rat, monkey, human plasma and buffer containing 1% BSA	DS-8201a (Process 1 [redacted])	In vitro	[redacted] Japan	4.2.2.4-1	4.2.2.4
Structure elucidation of metabolites of DS-8201a with cryopreserved hepatocytes	Rat, monkey, and human hepatocytes	DS-8201a (Process1 [redacted])	In vitro	[redacted] Japan	4.2.2.4-2	4.2.2.4
Metabolic profiles in urine, feces, and bile after single intravenous administration of ^{14}C-DS-8201a to monkeys	Cynomolgus monkeys	^{14}C-DS-8201a ([redacted])	Intravenous, single dose	[redacted] Japan	4.2.2.4-3	4.2.2.4
Metabolic profiles in urine, feces, and bile after single intravenous administration of ^{14}C-MAAA-1181a to rats	Crl:CD(SD) rats	^{14}C-MAAA-1181a	Intravenous, single dose	[redacted] Japan	4.2.2.4-4	4.2.2.4
Excretion						
Excretion of radioactivity in urine and feces after single intravenous administration of ^{14}C-DS-8201a to monkeys	Cynomolgus monkeys	^{14}C-DS-8201a ([redacted])	Intravenous, single dose	[redacted] Japan	4.2.2.3-2	4.2.2.3
Excretion of radioactivity in urine, feces, and expired air after single intravenous administration of ^{14}C-MAAA-1181a to rats	Crl:CD(SD) rats	^{14}C-MAAA-1181a	Intravenous, single dose	[redacted] Japan	4.2.2.5-1	4.2.2.5

1.　薬物動態試験：一覧表（6/6）

Type of Study	Test System	Test Article	Method of Administration	Testing Facility	Attachment Number	Location in CTD
Excretion of radioactivity in bile after single intravenous administration of ^{14}C-MAAA-1181a to rats	Crl:CD(SD) rats (Bile duct-cannulated)	^{14}C-MAAA-1181a	Intravenous, single dose	[redacted] Japan	4.2.2.5-2	4.2.2.5
Other						
PK profile after single intravenous administration of DS-8201a (Process 1)	Cynomolgus monkeys	DS-8201a (Process 1 [redacted])	Intravenous, single dose	[redacted] Japan	4.2.2.7-1	4.2.2.7
PK profile after single intravenous administration of DS-8201a (Process 2)	Cynomolgus monkeys	DS-8201a (Process 2 [redacted])	Intravenous, single dose	[redacted] Japan	4.2.2.7-2	4.2.2.7

PK, pharmacokinetic.

2.　分析方法及びバリデーション試験（1/5）

Animal Species	**Mice**		**Rats**	
Analyte	DS-8201a	Total antibody	DS-8201a	Total antibody
Sample Matrix	Plasma		Plasma	
Analytical Method	Ligand binding assay		Ligand binding assay	
Maximum Required Dilution	50-fold		50-fold	
Calibration Curve Range (ng/mL)	75.0 to 80,000		100 to 60,000 75.0 to 80,000	
LLOQ (ng/mL)	100		100	
Intra-day Reproducibility **Accuracy (% RE)** **Precision (% CV)** **Total Error (% TE)**	 −3.61 to 15.2 1.48 to 4.72 5.34 to 18.1	 3.50 to 16.0 2.01 to 5.23 5.51 to 21.2	 −3.28 to 10.5 1.06 to 4.52 2.32 to 15.0	 −8.39 to 6.00 0.00 to 3.90 2.33 to 10.4
Inter-day Reproducibility **Accuracy (% RE)** **Precision (% CV)** **Total Error (%TE)**	 −18.2 to 19.6 0.110 to 9.08 1.72 to 22.1	 −7.83 to 16.0 0.766 to 7.80 2.23 to 21.2	 −17.1 to 18.6 0.118 to 11.5 1.44 to 28.2	 −12.7 to 17.4 0.00 to 14.3 2.33 to 22.4
Dilution Reproducibility	10-, 100-, and 1000-fold		10-, 100-, and 1000-fold	
Stability in Plasma	−80°C: 96 days		−80°C: 104 days	
Freeze and Thaw Stability	4 cycles		4 cycles	
Attachment Number	4.2.2.1-1		4.2.2.1-2	

2.　分析方法及びバリデーション試験（2/5）

Animal Species	**Monkeys**	
Analyte	DS-8201a	Total antibody
Sample Matrix	Plasma	
Analytical Method	Ligand binding assay	
Maximum Required Dilution	50-fold	
Calibration Curve Range (ng/mL)	100 to 60,000	
LLOQ (ng/mL)	100	
Intra-day Reproducibility **Accuracy (% RE)** **Precision (% CV)** **Total Error (% TE)**	 −0.111 to 8.28 0.971 to 5.42 2.15 to 13.7	 0.00 to 12.3 0.959 to 3.46 1.60 to 14.9
Inter-day Reproducibility **Accuracy (% RE)** **Precision (% CV)** **Total Error (% TE)**	 −8.22 to 11.0 0.767 to 5.76 1.81 to 13.7	 −18.3 to 12.3 0.519 to 9.55 1.60 to 27.9
Dilution Reproducibility	10-, 100-, and 1000-fold	
Stability in Plasma	−80°C: 97 days	
Freeze and Thaw Stability	4 cycles	
Attachment Number	4.2.2.1-3	

2.　分析方法及びバリデーション試験（3/5）

Animal Species		**Rats**		**Monkeys**	
Analyte		Anti-DS-8201a antibody	Anti-MAAL-9001 antibody	Anti-DS-8201a antibody	Anti-MAAL-9001 antibody
Sample Matrix		Plasma		Plasma	
Analytical Method		Electro-chemiluminescence assay		Electro-chemiluminescence assay	
Maximum Required Dilution		10-fold		10-fold	
Quantification Range (ng/mL)		39.1 to 10,000	39.1 to 40,000	39.1 to 10,000	39.1 to 40,000
LLOQ (ng/mL)		39.1		39.1	
Normalization Factor		1.33	1.06	1.88	1.10
Intra-day Reproducibility (Positive Control Samples)					
Screening Assay	Accuracy (% RE), Measured Value	−9.7 to −9.0	−0.2 to 7.1	4.1 to 7.4	1.0 to 4.3
	Precision (% CV), Measured Value	1.7	1.3 to 2.3	1.6 to 2.2	2.0 to 4.5
	Precision (% CV), Signal	1.6 to 3.8	1.4 to 17.1	1.1 to 2.8	1.0 to 17.5
Specificity Assay	Precision (% CV) Signal	0.0 to 1.0	0.0 to 0.5	0.0 to 0.2	0.1 to 0.8
Inter-day Reproducibility (Positive Control Samples)					
Screening Assay	Accuracy (% RE), Measured Value	−9.7 to 7.4	−4.1 to 11.3	−0.7 to 11.5	−0.7 to 11.4
	Precision (% CV), Measured Value	0.7 to 4.5	0.2 to 3.7	0.3 to 4.3	0.4 to 4.6
	Precision (% CV), Signal	0.7 to 4.7	0.2 to 17.1	0.4 to 4.6	0.5 to 17.5
Specificity Assay	Precision (% CV) Signal	0.0 to 1.1	0.0 to 0.7	0.0 to 0.9	0.0 to 0.8
Screening Cut Off Point (Potentially Positive) **Specificity Cut Off Point (Positive)**		Signal > Cut Off Point %difference < −55.0%	Signal > Cut Off Point %difference < −50.0%	Signal > Cut Off Point %difference < −60.0%	Signal > Cut Off Point %difference < −15.0%
Stability in Plasma		−80°C: 97days		−80°C: 97 days	
Freeze and Thaw Stability		6 cycles		6 cycles	
Attachment Number		4.2.2.1-4		4.2.2.1-5	

2.　分析方法及びバリデーション試験（4/5）

Animal Species	**Humans**	**Mice**	**—**	**Mice**	**Rats**	**Monkeys**	**Humans**
Analyte	MAAA-1181a			MAAA-1181a			
Sample Matrix	Plasma		Buffer	Plasma supernatant			
Pretreatment	Protein precipitation by ethanol			Protein precipitation by ethanol			
Analytical Method	LC-MS/MS			LC-MS/MS			
Internal Standard	MAAA-1454a			MAAA-1454a			
Quantification Range (ng/mL)	0.100 to 20.0			0.100 to 20.0			
LLOQ (ng/mL)	0.100			0.100			
Intra-day Reproducibility **Accuracy (% RE)** **Precision (% CV)**	−3.5 to 11.3 1.2 to 5.1	−0.5 to 10.0 0.5 to 1.7	0.0 to 13.3 2.0 to 2.9	2.0 to 10.0 1.1 to 5.8	−6.5 to 3.7 1.2 to 9.3	2.0 to 5.6 1.2 to 3.4	−4.5 to 8.0 0.6 to 12.0
Dilution Reproducibility	10-fold in plasma 50-fold in deproteinated plasma 10						
Stability in Plasma	−80°C: 94 days in plasma −80°C: 92 days in deproteinated plasma		−80°C: 97 days in deproteinated plasma	−80°C: 36 days	−80°C: 32 days	−80°C: 36 days	−80°C: 32 days
Freeze and Thaw Stability	5 cycles in plasma 1 cycles in deproteinated plasma		1 cycles in deproteinated plasma	5 cycles			
Attachment Number	4.2.2.1-6			4.2.2.1-7			

2.　分析方法及びバリデーション試験（5/5）

Animal Species	**Rats**	**Monkeys**	**Rats**	**Monkeys**
Analyte	MAAA-1181a	MAAA-1181a	MAAA-1181a	
Sample Matrix	Plasma	Plasma	Plasma	
Pretreatment	Protein precipitation by ethanol	Protein precipitation by ethanol	Filtration after protein precipitation by ethanol	
Analytical Method	LC-MS/MS	LC-MS/MS	LC-MS/MS	
Internal Standard	MAAA-1454a	MAAA-1454a	MAAA-1454a	
Quantification Range (ng/mL)	0.100 to 20.0	0.100 to 20.0	0.100 to 20.0	
LLOQ (ng/mL)	0.100	0.100	0.100	
Intra-day Reproducibility **Accuracy (% RE)** **Precision (% CV)**	 1.0 to 4.3 0.6 to 2.2	 −14.0 to −1.9 2.1 to 8.1	 −10.5 to 1.9 1.2 to 13.4	 −5.5 to −0.6 1.3 to 9.4
Inter-day Reproducibility **Accuracy (% RE)** **Precision (% CV)**	 3.0 to 8.0 6.7 to 12.6	 −6.9 to 8.0 7.7 to 12.1	 3.0 to 9.0 1.9 to 9.2	 −4.4 to 6.0 6.6 to 13.3
Dilution Reproducibility	5000-fold in plasma 50-fold in deproteinated plasma	5000-fold in plasma 50-fold in deproteinated plasma	100-fold in plasma 100-fold in deproteinated plasma	
Stability in Plasma	−80°C: 112 days in plasma −80°C: 200 days in deproteinated plasma	−80°C: 114 days in plasma −80°C: 202 days in deproteinated plasma	Not confirmed	
Freeze and Thaw Stability	5 cycles in plasma 1 cycles in deproteinated plasma	5 cycles in plasma 1 cycles in deproteinated plasma	Not confirmed	
Attachment Number	4.2.2.1-8	4.2.2.1-9	4.2.2.1-10	

3.　薬物動態試験：　吸収：単回投与

3.1　サルに単回静脈内投与後の薬物動態

			Test Article: DS-8201a	
			Location in CTD: 4.2.2.2	**Attachment No. 4.2.2.2-1**
Species	Cynomolgus monkeys			
Sex/Number of Animals	Male/n = 3 for each group			
Feeding Condition	Fasted			
Vehicle/Formulation	10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, 0.02 w/v% polysorbate 20			
Method of Administration	Single intravenous			
Dose (mg/kg)	0.1, 0.3, 1, 3			
Sample	Plasma			
Sampling Time	0.083, 1, 7 hours, 1, 3, 7, 14, 21, 28 days			
Analyte	DS-8201a, total antibody, MAAA-1181a, anti-DS-8201a antibody			
Assay	Ligand binding assay (DS-8201a, total antibody, anti-DS-8201a antibody), LC-MS/MS (MAAA-1181a)			
PK Parameters	0.1 mg/kg	0.3 mg/kg	1 mg/kg	3 mg/kg
DS-8201a				
AUClast (μg·d/mL)	1.51 ± 0.66	8.01 ± 0.55	45.2 ± 4.4	214 ± 20
AUCinf (μg·d/mL)	1.87 ± 0.49	8.43 ± 0.86	46.1 ± 4.5	216 ± 21
t1/2 (d)	0.641 ± 0.137	0.686 ± 0.191	2.90 ± 0.08	3.92 ± 1.71
CL (mL/d/kg)	55.7 ± 13.4	35.9 ± 3.8	21.8 ± 2.3	14.0 ± 1.3
Vss (mL/kg)	45.3 ± 6.7	30.6 ± 3.9	55.4 ± 2.6	52.7 ± 11.3
MRTinf (d)	0.834 ± 0.152	0.867 ± 0.191	2.55 ± 0.15	3.84 ± 1.10
Total Antibody				
AUClast(μg·d/mL)	1.63 ± 0.77	7.25 ± 0.11	42.4 ± 9.2	208 ± 26
AUCinf (μg·d/mL)	2.00 ± 0.63	7.67 ± 0.38	43.4 ± 9.1	211 ± 27
t1/2 (d)	0.648 ± 0.159	0.706 ± 0.217	4.54 ± 0.93	4.60 ± 1.54
MRTinf (d)	0.843 ± 0.190	0.886 ± 0.230	3.19 ± 0.43	4.34 ± 1.42

The data are expressed as the mean ± standard deviation.
d: day.

4.　薬物動態試験：吸収：反復投与

2.6.7 項に記載

5.　薬物動態試験：分布

5.1　［^{3}H］標識 DS-8201a のサル定量全身オートラジオルミノグラフィー（1/2）

			Test Article: ^{3}H-DS-8201a	
		Location in CTD: 4.2.2.3	**Attachment No.: 4.2.2.3-1**	
Species	Cynomolgus monkeys			
Sex/Number of Animals	Male/1 at each time			
Feeding Condition	Non-fasted			
Vehicle/Formulation	10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, 0.02 w/v% polysorbate 20			
Method of Administration	Single intravenous			
Dose (mg/kg)	6.4			
Radionuclide	^{3}H			
Specific Radioactivity	13.1 MBq/kg			
Sampling Time (day)	1 and 14			
Assay	Quantitative whole body autoradioluminography			
Tissues/Organs	**Radioactivity Concentration (PSL/mm^{2})**	**Tissue/Blood Ratio**	**Radioactivity Concentration (PSL/mm^{2})**	**Tissue/Blood Ratio**
	1 day		**14 days**	
Adrenal gland	12.60	0.61	1.83	0.45
Blood	20.78	1.00	4.03	1.00
Bone	0.16	0.01	0.08	0.02
Bone marrow	4.65	0.22	0.80	0.20
Brown fat	2.63	0.13	0.78	0.19
Cerebellum	0.35	0.02	0.02	0.00
Cerebrum	0.14	0.01	0.00	0.00
Epididymis	11.24	0.54	1.51	0.37
Eyeball	1.37	0.07	0.19	0.05
Fat	0.00	0.00	0.02	0.00
Gastric contents	0.08	0.00	0.00	0.00

PSL, photo-stimulated luminescence.

5.1　［^{3}H］標識 DS-8201a のサル定量全身オートラジオルミノグラフィー（2/2）

			Test Article: ^{3}H-DS-8201a	
		Location in CTD: 4.2.2.3	Attachment No.: 4.2.2.3-1	
Tissues/Organs	**Radioactivity Concentration (PSL/mm^{2})**	**Tissue/Blood Ratio**	**Radioactivity Concentration (PSL/mm^{2})**	**Tissue/Blood Ratio**
	1 day		**14 days**	
Heart	8.48	0.41	1.05	0.26
Kidney	19.84	0.95	1.93	0.48
Large intestinal contents	0.13	0.01	0.09	0.02
Large intestine	3.17	0.15	0.38	0.09
Liver	14.94	0.72	2.44	0.61
Lung	18.89	0.91	3.52	0.87
Mandibular gland	2.72	0.13	0.69	0.17
Pancreas	4.55	0.22	0.45	0.11
Pituitary gland	3.80	0.18	0.17	0.04
Prostate gland	10.59	0.51	NS	NC
Skeletal muscle	0.53	0.03	0.10	0.02
Skin	0.63	0.03	0.19	0.05
Small intestinal contents	0.42	0.02	0.04	0.01
Small intestine	5.17	0.25	0.43	0.11
Spleen	10.60	0.51	2.24	0.56
Stomach	3.63	0.17	0.48	0.12
Testis	6.23	0.30	1.06	0.26
Thymus	2.17	0.10	0.64	0.16
Thyroid gland	6.29	0.30	0.32	0.08
Urinary bladder	0.74	0.04	0.70	0.17
Urine in bladder	9.47	0.46	NS	NC

NS, not specified; NC, not calculated; PSL, photo-stimulated luminescence.

5.2　［^{14}C］標識 DS-8201a のサル定量全身オートラジオルミノグラフィー（1/2）

			Test Article: ^{14}C-DS-8201a	
			Location in CTD: 4.2.2.3	**Attachment No.: 4.2.2.3-2**
Species	Cynomolgus monkeys			
Sex/Number of Animals	Male/1 at each time			
Feeding Condition	Non-fasted			
Vehicle/Formulation	10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, 0.02 w/v% polysorbate 20			
Method of Administration	Single intravenous			
Dose (mg/kg)	6.4			
Radionuclide	^{14}C			
Specific Radioactivity	0.54 MBq/kg			
Sampling Time (day)	1 and 14			
Assay	Quantitative whole body autoradioluminography			
Tissues/Organs	**Radioactivity Concentration (µg eq. of DS-8201a/g tissue)**	**Tissue/Blood Ratio**	**Radioactivity Concentration (µg eq. of DS-8201a/g tissue)**	**Tissue/Blood Ratio**
	1 day		**14 days**	
Adrenal gland	24.1	0.43	2.00	0.64
Blood	56.0	1.00	3.14	1.00
Bone	1.65	0.03	0.418	0.13
Bone marrow	7.48	0.13	0.543	0.17
Brown fat	7.93	0.14	0.689	0.22
Cerebellum	0.488	0.01	BLQ	NC
Cerebrum	0.366	0.01	BLQ	NC
Epididymis	15.2	0.27	1.25	0.40
Eyeball	1.33	0.02	0.489	0.16
Fat	1.55	0.03	0.334	0.11
Gastric contents	BLQ	NC	1.14	0.36

Lower limit of quantification = 0.330 µg eq. of DS-8201a/g tissue
Upper limit of quantification = 648 µg eq. of DS-8201a/g tissue
BLQ, below the lower limit of quantification; NC, not calculated.

5.2　［^{14}C］標識 DS-8201a のサル定量全身オートラジオルミノグラフィー（2/2）

			Test Article: ^{14}C-DS-8201a	
		Location in CTD: 4.2.2.3	Attachment No.: 4.2.2.3-2	
Tissues/Organs	**Radioactivity Concentration (µg eq. of DS-8201a/g tissue)**	**Tissue/Blood Ratio**	**Radioactivity Concentration (µg eq. of DS-8201a/g tissue)**	**Tissue/Blood Ratio**
	1 day		**14 days**	
Heart	14.4	0.26	1.10	0.35
Kidney	24.5	0.44	2.08	0.66
Large intestinal contents	139	2.48	5.86	1.87
Large intestine	4.03	0.07	0.843	0.27
Liver	23.4	0.42	2.76	0.88
Lung	39.6	0.71	3.01	0.96
Mandibular gland	7.32	0.13	0.774	0.25
Pancreas	10.2	0.18	0.632	0.20
Pituitary gland	9.79	0.17	1.11	0.35
Prostate gland	12.1	0.22	NS	NC
Skeletal muscle	1.19	0.02	BLQ	NC
Skin	4.71	0.08	0.590	0.19
Small intestinal contents	17.9	0.32	NS	NC
Small intestine	12.7	0.23	0.843	0.27
Spleen	22.0	0.39	2.12	0.68
Stomach	11.4	0.20	1.18	0.38
Testis	9.48	0.17	0.793	0.25
Thymus	6.14	0.11	0.585	0.19
Thyroid gland	4.62	0.08	BLQ	NC
Urinary bladder	2.85	0.05	0.728	0.23
Urine in bladder	8.91	0.16	NS	NC

Lower limit of quantification = 0.330 µg eq. of DS-8201a/g tissue
Upper limit of quantification = 648 µg eq. of DS-8201a/g tissue
BLQ, below the lower limit of quantification; NS, not specified; NC, not calculated.

6.　薬物動態試験：タンパク結合

6.1　MAAA-1181a の血漿タンパク結合

	Test Article: 3/10 C_2H_3N 2/5 CH_4O 3/10 H_2O adduct of MAAA-1181a			
	Location in CTD: 4.2.2.3			
	Attachment No.: 4.2.2.3-3			
Test System	In vitro			
Substrate Concentration as MAAA-1181a (ng/mL)	10, 30, 100			
Sample	Plasma (mouse, rat, cynomolgus monkey, human), pool			
Method	Ultracentrifugation			
Assay	LC-MS/MS			
	Plasma Protein Binding Ratio (%)			
Substrate Concentration (ng/mL)	**Mice**	**Rats**	**Monkeys**	**Humans**
10	92.5 ± 0.6	96.7 ± 0.2	89.1 ± 0.3	98.0 ± 0.2
30	91.5 ± 0.6	96.1 ± 0.2	86.9 ± 1.3	97.4 ± 0.3
100	90.3 ± 0.7	94.2 ± 1.4	86.5 ± 0.8	96.8 ± 0.1

The data are expressed as the mean ± standard deviation (N = 3).

7.　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

本申請で該当する試験は実施していない。

8.　薬物動態試験：その他の分布試験

8.1　［^{14}C］標識 MAAA-1181a の血球分布

			Test Article: ^{14}C-MAAA-1181a	
			Location in CTD: 4.2.2.3	
			Attachment No.: 4.2.2.3-4	
Test System	In vitro			
Substrate Concentration as MAAA-1181a (ng/mL)	10, 30, 100			
Sex/Number of Animals	Female (mice, N = 36), male (rats, monkeys, humans, N = 3)			
Sample	Blood (mice, rats, cynomolgus monkeys, humans)			
Method	Centrifugation			
Radionuclide	^{14}C			
Specific Radioactivity	3.64 MBq/mg			
Assay	Liquid scintillation counting			
	Mice	**Rats**	**Monkeys**	**Humans**
Substrate Concentration as MAAA-1181a (ng/mL)	**Distribution to Blood Cells (%)**			
10	32.9 ± 2.8	32.7 ± 6.1	36.4 ± 7.5	14.8 ± 1.7
30	33.8 ± 2.2	29.7 ± 5.5	39.0 ± 3.2	13.0 ± 3.8
100	31.6 ± 1.4	27.8 ± 1.2	39.7 ± 2.1	17.7 ± 3.4
Substrate Concentration as MAAA-1181a (ng/mL)	**Blood/Plasma Ratio**			
10	0.84 ± 0.03	0.87 ± 0.08	0.92 ± 0.12	0.60 ± 0.02
30	0.85 ± 0.03	0.83 ± 0.06	0.95 ± 0.05	0.59 ± 0.03
100	0.82 ± 0.02	0.81 ± 0.01	0.95 ± 0.04	0.62 ± 0.02

The data are expressed as the mean ± standard deviation (N = 3).

9.　薬物動態試験：代謝：In Vivo

9.1　サルに［^{14}C］標識 DS-8201a を単回静脈内投与後の代謝物構造解析

					Test Article: ^{14}C-DS-8201a	
				Location in CTD: 4.2.2.4	**Attachment No: 4.2.2.4-3**	
Species			Cynomolgus monkey			
Sex/Number of Animals			Male/1			
Feeding Condition			Non-fasted			
Vehicle/Formulation			10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, 0.02 w/v% polysorbate 20			
Method of Administration			Single intravenous			
Dose (mg/kg)			6.4			
Sample			Plasma, urine, feces			
Sampling Time			Plasma: 5 min, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 days postdose Urine and feces: 0 to 2, 2 to 4, 4 to 6 days			
Radionuclide/Specific Activity			^{14}C, 0.54 MBq/kg			
Analytical Method			Liquid scintillation counting, radio-HPLC, LC-MS			
	Collection (days)	**RT (min)[a]**	**RT (min)[b]**	**Observed Accurate Mass (Error)**	**Calculated exact mass**	**Composition**
MAAA-1181a monohydrate (Standard)		ND	15.35	*m/z* 494.1730 (+ 0.8 mDa)	*m/z* 494.1722	$C_{26}H_{25}FN_3O_6$
Feces	0 – 2	15.40	15.35	*m/z* 496.1768 (+ 1.4 mDa)	*m/z* 496.1754	[^{14}C]$C_{25}H_{25}FN_3O_6$
	2 – 4	15.40	15.36	m/z 496.1767 (+ 1.3 mDa)		
	4 – 6	15.40	15.36	*m/z* 496.1770 (+ 1.6 mDa)		
Urine	0 – 2	15.40	15.33	*m/z* 496.1765 (+ 1.1 mDa)		
	2 – 4	15.40	15.35	*m/z* 496.1768 (+ 1.4 mDa)		
	4 – 6	15.40	15.34	*m/z* 496.1771 (+ 1.7 mDa)		

Note that the authentic standard substance was MAAA-1181a monohydrate as a solid which was referred to MAAA-1181d in the report, but that it was observed as MAAA-1181a (the non-hydrate as a component in a solution).
ND, not determined.
[a] Retention time determined from radiochromatograms
[b] Retention time determined from extracted ion chromatograms

9.2　ラットに［^{14}C］標識 MAAA-1181a を単回静脈内投与後の代謝物構造解析

				Test Article: ^{14}C-MAAA-1181a
				Location in CTD: 4.2.2.4
				Attachment No: 4.2.2.4-4
Species		Rat/Crl:CD(SD)		
Sex/Number of Animals		Male/3		
Feeding Condition		Non-fasted		
Vehicle/Formulation		Saline, 0.1 mol/L sodium hydroxide, 1 mol/L hydrochloric acid (pH 7.0)		
Method of Administration		Single intravenous		
Dose (mg/kg)		1		
Sample		Urine, feces (pool)		Bile (pool)
Sampling Time (hour)		0-48		0-48
Radionuclide/Specific Activity		^{14}C, 3.708 MBq/kg		
Analytical Method		Radio-HPLC, LC-MS		
		Cumulative Excretion of Radioactivity (% of dose)		
Metabolite	Identification	Urine	Feces	Bile
Peak 1	MAAA-1181a	23.4	61.1	63.7
Peak 2	-	ND	1.1	ND
Total (%)[a]		27.1	69.7	71.6

Pooled samples of the samples collected in the studies (4.2.2.5-1 and 4.2.2.5-2) were used.
-, unidentified; ND, not detected (The value was below the lower limit of quantification.).
[a] Total radioactivity excretion (Attachment No. 4.2.2.5-1 and 4.2.2.5-2)

10. 薬物動態試験：代謝：*In Vitro*

10.1 マウス、ラット、サル、及びヒト血漿並びに緩衝液における DS-8201a の安定性

							Test Article: DS-8201a					
							Location in CTD: 4.2.2.4					
							Attachment No.: 4.2.2.4-1					
Test System	In vitro											
Substrate Concentration (μg/mL)	10.0, 100											
Sample	Plasma (mice, rats, cynomolgus monkeys, humans), pool											
Pretreatment	Protein precipitation by ethanol											
Assay	LC-MS/MS											
Analyte	MAAA-1181a											
	%Theoretical Release Rate											
Substrate Concentration (μg/mL)	10.0						100					
Time (day)	0	1	3	7	14	21	0	1	3	7	14	21
Mouse plasma	0.0	0.1	0.2	0.4	0.8	1.2	0.0	0.1	0.2	0.4	0.8	1.2
Rat plasma	0.0	0.1	0.4	0.7	1.4	1.8	0.0	0.1	0.4	0.5	1.3	1.7
Monkey plasma	0.0	0.2	0.9	1.9	3.7	3.9	0.0	0.2	0.7	1.1	2.7	3.5
Human plasma	0.0	0.1	0.5	1.1	2.2	2.1	0.0	0.2	0.6	0.8	2.4	1.5
PBS (pH7.0 - 7.3)+ 1% BSA	0.0	0.0	0.1	0.1	0.2	0.3	0.0	0.0	0.1	0.1	0.2	0.4

%Theoretical release rate = (Mean measured concentration of MAAA-1181a at each time point/molecular weight of MAAA-1181a/1000)/(prepared concentration of DS-8201a/molecular weight of DS-8201a × drug load) × 100

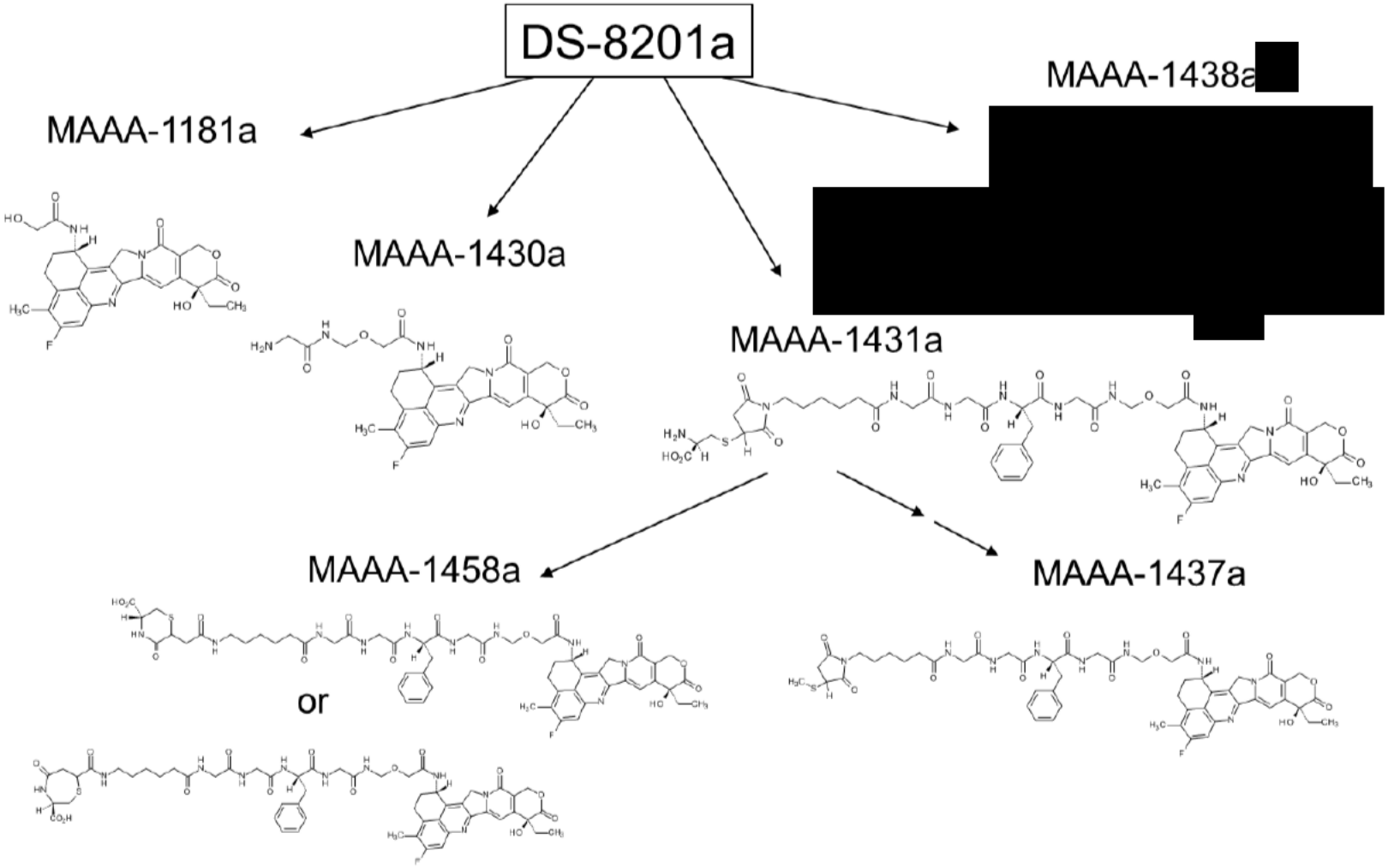
10.2 ラット、サル、及びヒト凍結肝細胞の代謝プロファイル

		Test Article: DS-8201a		
		Location in CTD: 4.2.2.4		
		Attachment No.: 4.2.2.4-2		
Test System	In vitro			
Substrate Concentration	0.49 mg/mL			
Sample	Cryopreserved hepatocytes (rat, cynomolgus monkey, human), pool			
Analytical Method	Fluorescence-HPLC, LC-MS			
Assay Condition	37°C, 6 hours			
Observed Metabolites		**Rats**	**Monkeys**	**Humans**
MAAA-1181a	Drug (Payload)	+	+	+[a]
MAAA-1430a	Methylglycinamide form of MAAA-1181a	+	+	+
MAAA-1431a	Cysteine conjugate form of the drug and linker moieties of DS-8201a	+	+	+
MAAA-1458a	Isomeric form of MAAA-1431a	+	+	+
MAAA-1438a[b]	Succinimide form of the drug and linker moieties of DS-8201a	+	+	+
MAAA-1437a	Thiomethylate form of the drug and linker moieties of DS-8201a	+	+	+

+, detected.
[a] The released MAAA-1181a ratio from DS-8201a was roughly estimated at 0.1%.
[b] [redacted]

11. 薬物動態試験：推定代謝経路

	Test Article: DS-8201a



12. 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

2.7.2 項に記載

13. 薬物動態試験：排泄

13.1 サルに［^{14}C］標識 DS-8201a を単回静脈内投与後の尿中及び糞中排泄

	Test Article: ^{14}C-DS-8201a
	Location in CTD: 4.2.2.3
	Attachment No.: 4.2.2.3-2

Species	Cynomolgus monkeys
Sex/Number of Animals	Male/1
Feeding Condition	Non-fasted
Vehicle/Formulation	10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 10 w/v% trehalose, 0.02 w/v% polysorbate 20
Method of Administration	Single intravenous
Dose (mg/kg)	6.4
Sample	Urine and feces
Sampling Time (day)	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14
Specific Activity	0.54 MBq/kg
Radionuclide	^{14}C
Assay Method	Liquid scintillation counting

	Cumulative Excretion of Radioactivity (% of dose)		
Sampling Time (day)	**Urine**	**Feces**	**Total**
0 – 1	4.8	5.9	10.6
0 – 2	7.7	19.9	27.6
0 – 3	9.5	30.5	40.0
0 – 4	11.2	39.9	51.1
0 – 5	12.6	46.3	58.9
0 – 6	13.9	51.1	65.0
0 – 7	14.9	54.4	69.3
0 – 8	15.8	57.2	72.9
0 – 9	16.4	59.3	75.7
0 – 10	17.0	61.5	78.5
0 – 11	17.5	63.0	80.4
0 – 12	17.8	64.6	82.4
0 – 13	18.4	66.4	84.8
0 – 14	18.7	67.3	86.0

13.2 ラットに［^{14}C］標識 MAAA-1181a を単回静脈内投与後の尿中、糞中、及び呼気中排泄

	Test Article: ^{14}C-MAAA-1181a
	Location in CTD: 4.2.2.5
	Attachment No.: 4.2.2.5-1

Species	Rats/Crl:CD(SD)
Sex/Number of Animals	Male/3
Feeding Condition	Non-fasted
Vehicle/Formulation	Saline, 0.1 mol/L sodium hydroxide, 1 mol/L hydrochloric acid (pH 7.0)
Method of Administration	Single intravenous
Dose (mg/kg)	1
Sample	Urine, feces, and expired air
Specific Activity	3.708 MBq/kg
Radionuclide	^{14}C
Assay Method	Liquid scintillation counting
Sampling Time (day)	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7

	Cumulative Excretion of Radioactivity (% of Dose)			
Sampling Time (day)	**Urine**	**Feces**	**Expired Air**	**Total**
0 – 1	27.0 ± 2.9	58.8 ± 6.0	0.1 ± 0.0	85.9 ± 3.8
0 – 2	27.1 ± 2.8	69.7 ± 2.7	0.1 ± 0.0	96.9 ± 0.1
0 – 3	27.2 ± 2.7	70.3 ± 3.0	0.1 ± 0.0	97.5 ± 0.3
0 – 4	27.2 ± 2.7	70.4 ± 3.1	0.1 ± 0.0	97.6 ± 0.4
0 – 5	27.2 ± 2.7	70.4 ± 3.1	0.1 ± 0.0	97.6 ± 0.4
0 – 6	27.2 ± 2.7	70.4 ± 3.1	0.1 ± 0.0	97.6 ± 0.5
0 – 7	27.2 ± 2.7	70.4 ± 3.1	0.1 ± 0.0	97.6 ± 0.5
Total Recovery				97.6 ± 0.5

The data are expressed as the mean ± standard deviation (N = 3).

14. 薬物動態試験：排泄：胆汁中

14.1 胆管カニューレ挿入ラットに［^{14}C］標識 MAAA-1181a を単回静脈内投与後の胆汁中、尿中、及び糞中排泄、

	Test Article: ^{14}C-MAAA-1181a
	Location in CTD: 4.2.2.5
	Attachment No.: 4.2.2.5-2
Species	Rats/Crl:CD(SD)
Sex/Number of Animals	Male/3
Feeding Condition	Non-fasted
Vehicle/Formulation	Saline, 0.1 mol/L sodium hydroxide, 1 mol/L hydrochloric acid (pH 7.0)
Method of Administration	Single intravenous
Dose (mg/kg)	1
Sample	Bile, urine, feces, gastro-intestinal contents, and carcass
Specific Activity	3.708 MBq/kg
Radionuclide	^{14}C
Assay Method	Liquid scintillation counting
Sampling Time (hour)	4, 8, 24, 48

	Cumulative Excretion of Radioactivity (% of dose)			
Sampling Time (hour)	**Bile**	**Urine**	**Feces**	**Total**
0 – 4	71.3 ± 3.5	NS	NS	NA
0 – 8	71.4 ± 3.4	NS	NS	NA
0 – 24	71.5 ± 3.4	19.8 ± 1.7	1.0 ± 0.3	92.3 ± 2.8
0 – 48	71.6 ± 3.4	21.9 ± 3.1	2.7 ± 0.7	96.3 ± 1.1
Total Recovery				96.7 ± 1.0

NS, no sample; NA, not applicable.
The data are expressed as the mean ± standard deviation (N = 3).
Total recovery included the residual radioactivity in gastro-intestinal contents (0.2 ± 0.2% of dose) and carcass (0.2 ± 0.3% of dose) at 48 hours after administration.

15. 薬物動態試験：薬物相互作用

2.7.2 項に記載

16. 薬物動態試験：その他

16.1 サルに単回静脈内投与後の薬物動態（1/2）

Test Article	**DS-8201a (Process 1 [redacted])**	**DS-8201a (Process 2 [redacted])**
Location in CTD	**4.2.2.7**	**4.2.2.7**
Attachment No.	**4.2.2.7-1**	**4.2.2.7-2**
Species	Cynomolgus monkeys	
Sex/Number of Animals	Male/12	
Feeding Condition	Fasted	
Vehicle/Formulation	10 mmol/L histidine buffer (pH 5.8), 11.1 w/v% trehalose, 0.02 w/v% Polysorbate 20	25 mmol/L histidine buffer (pH 5.5), 9 w/v% sucrose
Method of Administration	Single intravenous	
Dose (mg/kg)	8.0	
Sample	Plasma	
Sampling Time	0.083, 1, 7 hours, 1, 3, 7, 14, 21 days	
Analyte	DS-8201a, total antibody, MAAA-1181a, anti-DS-8201a antibody	
Assay	Ligand binding assay, LC-MS/MS	

16.1 サルに単回静脈内投与後の薬物動態（2/2）

PK parameters	DS-8201a (Process 1)	DS-8201a (Process 2)	Ratio[a]	90% CI[b]
DS-8201a				
Cmax (μg/mL)	235 ± 22	203 ± 20	0.865	0.809 - 0.925
C21d (μg/mL)	3.29 ± 1.39	2.28 ± 0.92	0.658	0.442 - 0.979
AUCinf (μg·d/mL)	670 ± 97	523 ± 79	0.779	0.700 - 0.867
AUC21d (μg·d/mL)	647 ± 87	509 ± 73	0.784	0.709 - 0.867
t1/2 (d)	4.54 ± 0.48	4.09 ± 0.54	-	-
Kel (/d)	0.154 ± 0.017	0.172 ± 0.026	-	-
CL (mL/d/kg)	12.2 ± 1.7	15.7 ± 2.8	-	-
Vss (mL/kg)	60.8 ± 5.8	76.4 ± 4.9	-	-
Total antibody				
Cmax (μg/mL)	210 ± 20	185 ± 13	-	-
AUCinf (μg·d/mL)	701 ± 107	539 ± 90	-	-
AUC21d (μg·d/mL)	668 ± 91	519 ± 82	-	-
t1/2 (d)	4.95 ± 0.58	4.45 ± 0.63	-	-
Kel (/d)	0.142 ± 0.017	0.159 ± 0.027	-	-
MAAA-1181a				
Cmax (ng/mL)	1.25 ± 0.44	0.963 ± 0.344	-	-
AUClast (ng·d/mL)	1.08 ± 0.51	0.833 ± 0.359	-	-
Tmax (d)	0.292 ± 0.000	0.271 ± 0.072	-	-

The data are expressed as the mean ± standard deviation.
-, not applicable; d, day.
[a] geometric mean ratio of DS-8201a (Process 2)/DS-8201a (Process 1)
[b] lower - upper